FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1962 N°

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

par

LEMERCIER Yves

Externe des Hôpitaux de Paris

né le 1er Janvier 1936 à PARIS XVII

Présentée et soutenue publiquement le

LA SÉCRÉTION GASTRIQUE DE PEPSINE ET LES DIFFICULTES D'APPRÉCIATION DE L'ACTIVITÉ PEPTIQUE DU SUC GASTRIQUE

Président : F. POILLEUX, Professeur

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538124_0076

LA SÉCRÉTION GASTRIQUE DE PEPSINE

ET LES DIFFICULTÉS D'APPRÉCIATION

DE L'ACTIVITÉ PEPTIQUE DU SUC GASTRIQUE

R. HUYS.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Chabrol (E.), Champy (C.), Debré (R.), Fey (B.), Gastinel (P.), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Lantuejoul (P.), Laroche (G.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Mondor (H.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Olivier (E.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D), Quénu (J.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.).

DOYEN . . . . . **Léon BINET.**
Membre de l'Institut

1er ASSESSEUR . . . . . **Jean VERNE**
2e ASSESSEUR . . . . . **Gaston CORDIER**

I. — PROFESSEURS

1e CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.) / SCHAPIRA (G.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Embryologie	GIROUD (A.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie (Lariboisière)	N...
Histologie	VERNE (J.)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (P.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	PIEDELIÈVRE (R.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	GALLIARD (H.)
Pathologie chirurgicale	HUGUIER (J.)
Pathologie exotique	LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	MILLIEZ (P.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	BOUDIN (G.)
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
Physiologie	BINET (L.) / BARGETON (D.)
Physiologie et pathologie obstétricale	LEPAGE (F.)
Physique médicale	DOGNON (A.) / DJOURNO (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	N...
Thérapeutique	CONTE (M.)

b) Professeurs à titre personnel :

Biochimie médicale	DESGREZ (P.) / POLONOVSKI (J.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Hygiène et médecine préventive	DEPARIS (M.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
Pharmacologie	LÉVY (Mlle J.)
Physiologie	PARROT (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.)

CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

		MM.
nique carcinologique chirurgicale (Necker)		REDON (H.)
nique cardiologique (Broussais)		MOUQUIN (M.)
niques chirurgicales	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	Cochin	LEGER (L.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
	Pitié	CORDIER (G.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
	Salpêtrière	SICARD (A.)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
nique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants Malades)		FÈVRE (M.)
nique chirurgicale orthopédique et réparatrice (Cochin)		MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
nique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		GAUDART d'ALLAINES (F. de)
nique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)		MATHEY (J.)
nique endocrinologique (Pitié)		DECOURT (J.)
nique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		LAMY (M.)
nique gynécologique (Broca)		FUNCK-BRENTANO (P.)
nique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		DEGOS (R.)
nique des maladies des Enfants (Enfants-Malades)		CATHALA (J.)
nique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
nique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		DELAY (J.)
ique des maladies métaboliques (Necker)		HAMBURGER (J.)
nique des maladies du sang (Broussais)		MARCHAL (G.)
nique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		CASTAIGNE (P.)
niques médicales	Boucicaut	LENÈGRE (J.)
	Broussais	SOULIÉ (P.)
	Cochin	JUSTIN-BESANÇON (L.)
	Cochin	BROUET (G.)
	Hôtel-Dieu	BARIÉTY (M.)
	Lariboisière	SÈZE (S. de)
	Pitié	DREYFUS (G.)
	Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
nique médicale d'hydrologie thérapeutique et climatologie (Bichat)		DEBRAY (C.)
nique médicale propédeutique (Broussais)		GENNES (L. de)
nique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)		DEROT (M.)
nique de neuro-chirurgie (Pitié)		DAVID (M.)
nique neurologique (Salpêtrière)		GARCIN (R.)
niques obstétricales	Baudelocque	LACOMME (M.)
	Foch (Suresnes)	MERGER (R.)
nique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)		VARANGOT (J.)
nique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)		RENARD (G.)
nique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)		AUBRY (M.)
nique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)		LELONG (M.)
nique de pédiatrie sociale (Enfants-Malades)		MARIE (J.)
nique de pneumo-phtisiologie (Laennec)		BERNARD (E.)
nique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)		MICHAUX (L.)
nique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)		COSTE (F.)
nique stomatologique (Pitié)		DECHAUME (M.)
nique thérapeutique chirurgixale (Vaugirard)		ROUX (M.)
nique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)		LEMAIRE (A.)
nique toxicologique		GAULTIER (M.)
nique traumatologique		PADOVANI (P.)
néiologie médicale		DOMART (A.)
néiologie et clinique chirurgicales		POILLEUX (F.)
nique urologique (Necker)		COUVELAIRE (R.)
giène et clinique de la première enfance (Trousseau)		TURPIN (R.)

b) Professeurs à titre personnel :

decine	BOUR (H.)
	LHERMITTE (F.)
	PEQUIGNOT (H.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE, PROFESSEURS AGRÉGÉS ET MAITRES DE CONFÉRENCES - AGRÉGÉS

	MM.
Anatomie	CABROL (C.) COUINAUD (C.) GILLOT (C.) OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	GAUTHIER-VILLARS (Mlle P.) pr. s. ch. ABELANET (R.) BUSSER (F.) CHOMETTE (G.) GOUYGOU (Ch.), m. conf. NEZELOFF (Ch.) ORCEL (L.) PAILLAS (J.)
Anesthésiologie	KERN (E.) VOURC'H (G.)
Bactériologie	BARBIER (P.) CHRISTOL (D.) LE MINOR (L.) TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	BAULIEU Et. m. conf. BOURILLON (R.) CARTIER (P.) DREYFUS (J.-Cl.) GONNARD (P.) KRUH (J.) JEROME (H.)
Biologie appliquée à l'Education Physique et aux Sports	PLAS (F.)
Carcinologie	BOIRON (M.) DENOIX (P.) MATHE (G.) SELIGMANN (M.)
Dermato-Syphiligraphie	CIVATTE (J.) DUPERRAT (B.)
Electro-Radiologie	LEDOUX-LEBARD (G.)
Hématologie	BESSIS (M.) BILSKI-PASQUIER (G.) DAUSSET (J.) DUHAMEL (G.)
Histologie	COUJARD (R.), pr. s. ch. MAROIS (M.) RACADOT (J.)
Hydrologie	BESANÇON (F.) CORNET (A.)
Hygiène	BOYER (J.) pr. s. ch. BLANCHER (G.) CORRE-HURST (Mme L.) SAPIN-JALOUSTRE (H.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.) DUPONT (V.)
Médecine légale	DERROBERT (L.), pr. s. ch. FOURNIER (E.) GUENIOT (M.) HADENGUE (A.)
Médecine du travail	ALBAHARY (C.)
Neuro-chirurgie	PERTUISET (B.)
Obstétrique	GRANJON (A.) HERVET (E.) LE LORIER (G.) LEVY (J.) MORIN (P.) MUSSET (R.) ROBEY (M.) SENEZE (J.) SUREAU (C.) THOYER-ROZAT (J.)
Ophtalmologie	BRÉGEAT (P.) DUBOIS (A.) SARAUX (H.)
Orthopédie	JUDET (R.) MEARY (R.) POSTEL (M.) RAMADIER (J.)
Oto-rhino-Laryngologie	DEBAIN (J.) PIALOUX (P.)
Parasitologie	GOLVAN (Y.) LAPIERRE (J.)
Pathologie chirurgicale	BARCAT (J.) BINET (J.-P.) CAUCHOIX (J.) CERBONNET (G.) CHATELIN (C.-L.) DUBOST (Ch.) DUBOST (Cl.) FAUREL (J.) FLABEAU (F.) GARBAY (M.) GARNIER (H.) (Cl. de) GAUDART-d'ALLAINES GERMAIN (A.) LATASTE (J.) LEVEQUE (B.) LOYGUE (J.) MERCADIER (M.) NATALI (J.) PELLERIN (D.) PERROTIN (J.) ROBERT (H.) THOMERET (G.)
Pathologie exotique	SCHNEIDER (J.)
Pathologie expérimentale	BENHAMOU (J.-P.) BERTHAUX (P.) BOIVIN (P.) CROSNIER (J.) HARTMANN (L.) LŒPER (J.) MAURICE (J.) MIKOL (Cl.) RICHET (G.)
Pathologie médicale	AUSSANNAIRE (M.) BOUVIER (J.) BOUVRAIN (Y.) BRICAIRE (H.) BRISSAUD (H.) BROCARD (H.) BUGE (A.) CATINAT (J.) CHRÉTIEN (J.) COBLENTZ (B.) CONTAMIN (F.) COURY (C.) ÉTIENNE (J.-P.) FREZAL (J.) FRITEL (D.) HENNEQUET (A.) HIMBERT (J.) HOUSSET (E.) LAROCHE (Cl.) LESOBRE (R.) MACREZ (C.) MOREAU (L.) NICK (J.) ROYER (P.) TOURNEUR (R.) WOLFROMM (R.)
Pédiatrie-Puériculture	JOSEPH (R.) LAFOURCADE (J.) LEPERCQ (G.) MANDE (R.) MOZZICONACCI (P.) POLONOVSKI (C.) ROSSIER (A.) VIALATTE (J.)

	MM.
armacologie	BOISSIER (J.) LECHAT (P.)
ysiologie	BARRES (G.) DEJOURS (P.) DURAND (J.) GIRARD m. conf.
ysique médicale	HUGELIN (A.) SCHERRER (J.) CHANTEUR (J.) COUGEROT (L.), m. conf. pr. s. ch. GREMY (F.) m. conf. MILHAUD (G.) PELLERIN (P.) ROUCAYROL (J.-Cl) TUBIANA (M.) m. conf.
eumo phtisiologie	KREIS (B.) MEYER (A.) RENAULT (P.)

	MM.
Psychiatrie	PICHOT (P.)
Psychiatrie infantile	DENIKER (P.) DUCHE (D.) FLAVIGNY (H.) LAPRESLE (J.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)
Stomatologie	CERNEA (P.) CHAPUT (Mme A.) m. c. agr. GRELLET (M.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.) LAMOTTE (M.) MARCHE (J.)
Urologie	AUVERT (J.) MOULONGUET (A. QUENU (L.)

III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGRÉGÉS CHARGÉS DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent.

	MM.
natomie	DEBEYRE (J.)
inique chirurgicale	ABOULKER (P.) AMFLINE (A.), pr. s. ch. VERNE (J.-M.)
inique médicale	PERRAULT (M.) RAMBERT (P.) THIEFFRY (S.)
inique obstétricale	GRASSET (J.) MAYER (M.)

	MM.
Clinique ophtalmologique	DESVIGNES (P.) OFFRET (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique	MADURO (R.)
Clinique pédiatrique et puériculture	LAPLANE (R.)
Clinique psychiatrique	BARUK (H.)
Clinique urologique	KUSS (E.)

IV. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

ctériologie . . . . . HAUDUROY (P.) Pr. s. ch.
thologie chirurgicale . . . . . RUDLER (J.) Pr. s. ch.

- CHARGÉS DE COURS D'HYGIÈNE SCOLAIRE ET UNIVERSITAIRE

BOLTANSKI (E.)
LAUNAY (C.)

crétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
crétaire principal	Mlle CHAINTREUIL (G.)
nservateur en Chef de la Bibliothèque nservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	M. le Docteur HAHN (A.)
nservateur	Mlle DUMAITRE (P.)
bliothécaires	Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles LAURENT (H.), LE NOIR (G.), QUIÉVREUX (E.)

A ma Femme

A mon Fils

A mes Parents

A mes Beaux-Parents

A mes amis et en particulier Claude Chérigié
Charles Mering
Jacques Poilleux

A tout le personnel de l'Assistance Publique
si dévoué.

A Monsieur le Professeur F. Poilleux

Professeur de Séméiologie et Clinique Chirurgicale à la Faculté de Médecine de Paris.
Chef de Service à l'Hôpital Broussais.
Officier de la Légion d'Honneur.

qui nous a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse et qui, au cours de nos années d'étude, nous a toujours donné des conseils judicieux.
En témoignage de notre profond respect et de notre vive gratitude.

A Monsieur le Professeur Cauchoix
Chirurgien des Hôpitaux de Paris
Chef de Service à l'Hôpital Saint-Louis

A Monsieur le Professeur Brocard
Médecin des Hôpitaux de Paris
Chef de Service à l'Hôpital Tenon

A Monsieur le Docteur Pestel
Médecin des Hôpitaux de Paris
Chef de Service à l'hôpital Bichat.

auxquels nous marquons
notre profonde reconnaissance
pour leur précieux
enseignement.
Avec nos remerciements.

A nos Maîtres dans les Hôpitaux

STAGE

Monsieur le Professeur BROCQ

In memoriam

Monsieur le Professeur MOREAU

Monsieur le Docteur ALBEAUX-FERNET

Monsieur le Docteur ISRAEL

Monsieur le Docteur MORIN.

A Monsieur le Docteur S. BONFILS
Médecin des Hôpitaux de Paris
qui nous a inspiré ce travail
n'a cessé de contribuer à sa
réalisation.
Avec toute notre reconnaissance et
notre gratitude.

A Mademoiselle M. DUBRASQUET
dont l'aide nous fut si précieuse.
Que ces mots soient le témoignage
de notre reconnaissance et de notre
amitié.

A Monsieur le Docteur LAMBLING
Médecin des Hôpitaux de Paris
Chef de Service à l'hôpital BICHAT

qui nous a offert la
possibilité de réaliser
ce travail.
Avec nos sentiments de
gratitude.

INTRODUCTION

La physiologie de la sécrétion gastrique, tant acide que peptique, est assez bien connue depuis les travaux de Anson, Babkin, Hirschowitz, Hunt, etc...

La physiopathologie de la sécrétion peptique a été moins bien étudiée que la physiopathologie de la sécrétion chlorhydrique, bien qu'actuellement tous les auteurs soient d'accord pour signaler le déséquilibre entre défense pariétale et sécrétion chlorhydropeptique dans la pathogénie de l'ulcère gastro-duodénal.

Après un rappel de l'histophysiologie de la sécrétion peptique, nous nous sommes attachés aux problèmes posés par l'appréciation de l'activité peptique du suc gastrique recueilli après tubage minuté suivant la technique de Lambling et Bernier.

P L A N

LA SECRETION GASTRIQUE DE PEPSINE

I - Histophysiologie de la cellule à pepsine

A - Rappel des différents types de cellules gastriques.

B - Répartition des cellules à pepsine dans l'estomac et histogénèse.

C - Histologie élémentaire de la cellule à pepsine.

D - Cycle de sécrétion du pepsinogène et modifications de la structure cellulaire en fonction de ce cycle.

II - Stimulations physiologiques

A - Mécanisme et commandes.

B - Influences endocrines.

et pharmacologiques

A - Stimulations cholinergiques.

B - Stimulations par histamine.

C - Stimulations par la caféine.

D - Stimulations par hyperventilation.

III - Appréciation de l'activité peptique de l'estomac directe, indirecte (sang et urine).

PLAN (Suite) -

LES DIFFICULTES D'APPRECIATION DE L'ACTIVITE PEPTIQUE DU SUC GASTRIQUE

I - Technique de dosage

II- Expression des résultats

III- Tyrosine endogène

IV- Etude du pH optimum

V - Problème du mucus et de la centrifugation du suc gastrique

VI- Choix du substrat et optimum de concentration

VII- Etude de la cinétique

VIII- Inhibition de l'activité peptique

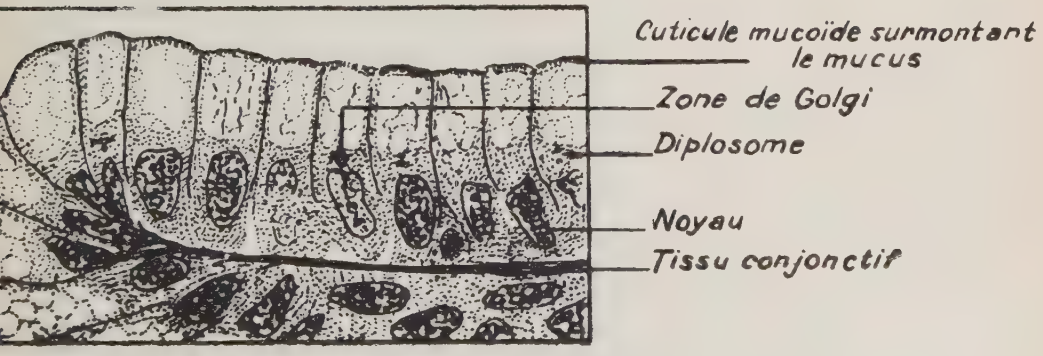
HISTOPHYSIOLOGIE DE LA CELLULE A PEPSINE

Rappel des différents types de cellules gastriques

La muqueuse gastrique, épaisse d'environ 1 à 2,5 mm est constituée :

- d'un épithélium de revêtement
- de glandes.

L'épithélium de revêtement est un épithélium prismatique simple. Il s'invagine en donnant des replis plus ou moins en rapport avec la configuration interne de l'estomac. Le fond des replis constitue des cryptes au niveau desquelles se trouvent des orifices des glandes gastriques. On peut schématiser les cellules de la manière suivante :



Elles secrètent un mucus particulier (cellules mucoïdes ne se colorant pas par les colorants habituels, ne coagulant pas par l'acide acétique). Le mucus n'est pas détruit par l'acide chlorhydrique, il filtre à travers les pores de la bordure en brosse et tapisse toute la surface de l'estomac.

Les glandes gastriques sont des glandes tubulaires légèrement ramifiées. Elles débouchent dans le fond des cryptes de la muqueuse par un petit canal dit : isthme. Les cellules de l'isthme ressemblent à celles des cryptes : cubiques. Elles renferment peu de mucus.

A l'isthme fait suite le collet de la glande ou pièce accessoire, ou pièce intermédiaire. A ce niveau, les cellules sont mucoïdes, claires, à noyau basal. A leur superficie, on trouve un mucus abondant. On trouve aussi de nombreuses cellules, les cellules bordantes du collet. Les divisions cellulaires sont ici fréquentes, zone de régénération des cellules épithéliales et tubulaires.

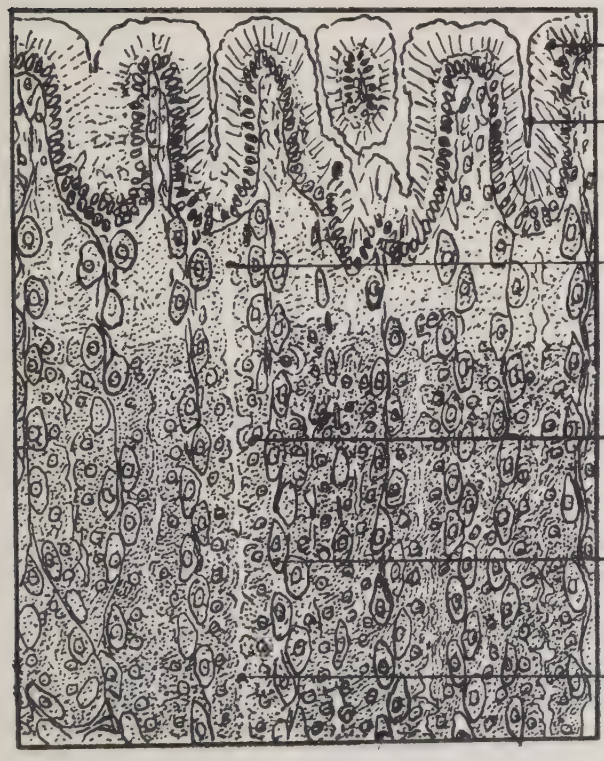
Enfin, faisant suite à la pièce accessoire, le tube glandulaire proprement dit, auquel on reconnaît le corps et le fond.

Les tubes glandulaires sont de longs tubes rectilignes, dont le fond est parfois incurvé. Leur lumière très étroite est quasi-virtuelle.

Leur paroi est constituée de deux sortes de cellules :

- cellules dites bordantes,
- cellules dites principales.

Les cellules bordantes sont situées à la périphérie des tubes et sont plus volumineuses que les cellules principales. Elles reposent sur la membrane basale. Elles représentent un noyau, un chondriome, un centrosome, des granulations acidophiles. On peut y trouver deux noyaux. Elles peuvent se multiplier. Elles sécrètent de l'acide chlorhydrique.



Enfin, nous étudierons à part les caractères histologiques des cellules principales.

Répartition des cellules principales dans l'estomac et histogénèse

- La répartition des cellules principales est la suivante : la concentration maximum des cellules principales se situe dans les trois quarts de la partie moyenne de l'estomac. Les muqueuses fundiques et pyloriques sont pauvres en cellules peptiques.

Cette étude a été faite sur le chat (Bowie), le porc et les autres mammifères. On retrouve des cellules principales dans la partie inférieure de l'oesophage (amphibies). On ne retrouve pas de sécrétion peptique chez quelques poissons sans estomac.

- Le temps d'apparition des cellules principales jugées en état de fonction par l'existence de granulations ou par la concentration de pepsinogène de la muqueuse, est différent selon les espèces.

Chien, chat, lapin, porc : deux semaines après la naissance,

Rat : activité peptique à la naissance,

Mouton : dans la 2ème moitié de la vie foetale,

Boeuf : au début du 3ème mois,

Chez l'embryon humain, les cellules principales apparaissent vers le septième, huitième mois de la vie foetale, se développent progressivement. Les granulations et l'activité peptique augmentent rapidement. A la naissance, le foetus a environ le tiers des granulations de l'adulte. Pour WERNER, il existe un rapport constant entre le pepsinogène contenu dans la muqueuse et la taille du foetus.

La différenciation des cellules muqueuses du collet est à l'origine des cellules principales. Ceci tend à être vérifié par l'étude des mécanismes de régénération.

Dans la reconstitution de la muqueuse après traumatisme, le processus est le suivant (Ferguson) :

- Les cellules muqueuses du collet se différencient en cellules de la crypte, plus primitives, qui s'étendent, formant une ébauche tubulaire au niveau de la lésion.

- Les cellules des tubules ainsi formées se différencient à leur tour, en cellules muqueuses du collet qui présenteront des mitoses, à partir desquelles vont enfin se différencier les cellules pariétales et principales (basales basophiles, puis granulations zymogènes).

Cette reconstitution des cellules principales se fait indépendamment de celle du revêtement épithélial. La colchicine chez le rat (Hirschowitz) entraîne une activité mitotique de l'épithélium de surface et des cellules muqueuses du collet.

Histologie élémentaire de la cellule à pepsine

Les cellules principales sont des cellules glandulaires. Elles possèdent un noyau, de grosses granulations basophiles à leur pôle supérieur (Hebstein), (Grutzner et Langley). Mais il existe une zone superficielle où l'on ne peut plus mettre en évidence ces granulations. A la base, existe un abondant chondriome : mitochondries (Altmann) et chondriochontes. L'appareil de Golgi est situé près du noyau. Le centrosome est petit, superficiel, marqué par des grains. Le cytoplasme basal contient de nombreux filaments ou lamelles de 0,08 de large environ, parfois parallèles, le plus souvent concentriques, situés entre le noyau et la base de la cellule. Des gouttelettes (de 0,6 à 0,85) et un nombre variable de vacuoles (0,9) contenant un matériel finement granulaire, sont contenues dans le

cytoplasme. Le nombre de gouttelettes est inversement proportionnel au nombre de vacuoles. Les cellules principales possèdent un bord strié composé de filaments de 0,2 de long et de 0,6 de large visible au microscope électronique. Elles contiennent enfin à leur base, du fer et du phosphore (macallum).

Cycle de sécrétion du pepsinogène et modifications de la structure cellulaire en fonction de ce cycle -

Histologiquement, on peut découper ce cycle en une phase de sécrétion et une phase de repos. Mais cette distinction n'a pas de valeur physiologique.

Ce cycle histologique complet peut être étudié chez le jeune lapin après injection de pilocarpine.

- Une heure après l'injection, on note une disparition des granulations - excepté au niveau de la base qui se rétrécit - une dispersion des mitochondries dans toute la cellule.

- Trois heures après l'injection, il existe encore une diminution des granulations que seules contiennent les cellules situées dans le fond du tubule gastrique. Les mitochondries s'accroissent, s'amincissent et deviennent ondoyantes. Le contenu absolu de pepsine du suc gastrique a augmenté aux dépens du pepsinogène de la muqueuse.

- Six heures après l'injection, apparaît la phase de repos, avec grossissement des cellules et des mitochondries situées à la base de la cellule.

- Seize heures après l'injection, le cycle est bouclé : retour au taux initial de pepsinogène de la muqueuse et réapparition des granulations dans les cellules principales.

Le corps de Golgi subit lui-même des modifications cycliques : petit et compact, il devient large, à gros grains et occupe la zone d'apparition des granulations.

L'atropine augmente la durée de la phase de repos, elle augmente le nombre des granulations, diminue celui des mitochondries, rend le corps de Golgi plus compact qu'à l'état de jeûne.

STIMULATION PHYSIOLOGIQUE DE LA SECRETION PEPTIQUE -

La sécrétion peptique, parallèlement à la sécrétion du suc gastrique, répond à une double commande :

- nerveuse réflexe
- chimique.

Elle est aussi sous l'influence des glandes endocrines.

Commande nerveuse réflexe

L'expérience du repas fictif met bien en valeur cette commande nerveuse réflexe.

Quand l'estomac est à jeun, on recueille seulement par le tubage 50 à 100 cm3 d'un liquide formé d'un mélange de suc gastrique et de suc duodénal, qui a reflué dans l'estomac ; mais chez l'animal préparé, porteur d'une fistule gastrique et oesophagienne, on observe qu'il y a sécrétion du suc gastrique 5 minutes environ après le début du repas alors que les aliments ingérés sont rejetés par la fistule oesophagienne : la présence des aliments dans l'estomac par conséquent n'est pas nécessaire pour provoquer la sécrétion, l'ingestion des aliments suffit.

S'il est suffisamment affamé, il suffit de présenter un morceau de viande à un chien, pour provoquer une sécrétion psychique.

Le mécanisme nerveux de cette sécrétion comporte :

une voie efférente : le pneumogastrique, nerf secrétoire de l'estomac, comme l'a montré Pavlov. Il sectionne chez le chien un des deux nerfs pneumogastriques au cou et attend quatre jours ; pendant ce temps, les fibres cardio-modératrices dégénèrent, mais non les fibres destinées à l'estomac. L'excitation du bout périphérique du pneumogastrique au cou provoque une sécrétion gastrique chlorhydropeptique sans retentissement fâcheux sur la circulation.

Le centre de cette commande est mal connu; ni bulbaire, ni cortical, il semble siéger dans l'hypothalamus.

Ainsi la sécrétion gastrique et en particulier peptique a une commande nerveuse réflexe, mais celle-ci n'est pas tout. En effet, dans l'expérience du petit estomac de Pavlov, la sécrétion se produit mais s'arrête au bout d'une heure environ, alors que dans les conditions normales elle dure autant qu'il y a des aliments dans l'estomac.

Il faut faire intervenir un deuxième mécanisme.

Commande chimique

Elle peut être mise en évidence par l'expérience de l'estomac transplanté. Si, chez un chien, on transplante un morceau d'estomac dans la région mammaire (il est privé par conséquent de toute innervation) et si on donne à ce chien un repas, on constate que l'estomac transplanté se met à sécréter. La sécrétion de cet estomac transplanté est forcément transmise par voie sanguine grâce à une substance chimique véhiculée.

L'excitant n'est pas représenté par les aliments mais par des produits de transformation des aliments, en particulier des peptones.

Le suc gastrique sécrété par voie chimique présente des différences qualitatives suivant la nature

des aliments qui sont dans l'estomac :

- si ce sont surtout des graisses, le suc gastrique sera pauvre en pepsine ;
- si c'est surtout de la viande, le suc gastrique sera riche en pepsine utile à la digestion des substances protéiques.

Quant à la nature du "messager chimique" de la substance véhiculée par le sang à la suite de la transformation des aliments dans l'estomac et qui va exciter la sécrétion chimique, on ne sait pas grand chose.

On a fait jouer un rôle important à l'histamine qui, injectée par voie intra-veineuse chez l'homme excite la sécrétion gastrique, mais il est fort douteux que l'histamine intervienne dans les conditions physiologiques normales. La gastrine a une action semblable à celle de l'histamine : la sécrétion peptique n'est pas augmentée chez le chien (Linde). Uvnas a trouvé que la gastrine pouvait stimuler la sécrétion peptique.

Il s'agit sans doute d'un facteur voisin de la sécrétine. La sécrétine brute stimule la sécrétion peptique, mais on ne sait pas si la sécrétine purifiée a la même action.

Influences endocrines

- L'hypophyse antérieure joue un rôle important dans le maintien de l'intégrité de la structure et de la fonction de la muqueuse gastrique, comme l'ont montré Baker et Abrams.

L'hypophysectomie chez le rat entraîne une diminution de la sécrétion peptique et une transformation morphologique de la cellule peptique avec diminution de taille de la cellule et des constituants cellulaires.

Le débit de pepsine obtenu dans l'estomac énervé de chien après hypophysectomie est augmenté pendant quelques jours, puis vers le sixième jour, revient à la normale.

L'hypophysectomie après surrénalectomie aggrave la diminution de sécrétion peptique.

L'injection de TSH augmente considérablement cette sécrétion.

- La carence du cortex surrénal entraîne une régression des cellules principales, celle-ci est cependant moins nette qu'après hypophysectomie. La surrénalectomie chez le rat diminue la sécrétion peptique. Un régime sans sel, ou une administration massive de cortisone accentue cette diminution de sécrétion. On constate le même effet dans la maladie d'Addison, la sécrétion peptique redevenant normale après corticothérapie. Dans l'insuffisance surrénale, la perte de sodium semble jouer un rôle important.

- L'action stimulante du cortex surrénal est controversée. Elle a été vérifiée chez le chien après administration d'ACTH, mais n'a pas été retrouvée chez l'homme (après ACTH, hydrocortisone, corticostérone ou prednisolone). Chez le rat, certains auteurs ont constaté une augmentation du nombre et de la taille des cellules peptiques; le contenu muqueux de pepsinogène est augmenté mais la sécrétion peptique reste normale.

- Rôle du Na et de l'aldostérone -

La fuite de Na ou sa carence entraîne, nous l'avons vu, une diminution de sécrétion peptique, une réduction de synthèse du pepsinogène. Inversement, l'injection de solution salée isotonique chez le rat entraîne une augmentation de sécrétion, par augmentation de synthèse du pepsinogène. L'aldostérone produirait aussi une augmentation de sécrétion immédiate se prolongeant durant la perfusion.

- Médullo-surrénale -

L'adrénaline à doses faibles stimule la sécrétion peptique, à doses fortes la diminue.

- Thyroïde -

La thyroïdectomie, l'hypothyroïdie après antithyroïdiens, entraîne, après un temps de latence, une

brusque chute de sécrétion peptique. La transformation morphologique cytologique est insignifiante.

- Gonades -

La gonadectomie seule n'a pas d'action sur la sécrétion peptique, mais, associée à une thyroïdectomie et une surrénalectomie, elle produit une diminution de sécrétion beaucoup plus importante que celle engendrée par l'exérèse de chacune de ces glandes, et une transformation morphologique cytologique comparable à celle que l'on obtient après hypophysectomie.

STIMULATION PHARMACOLOGIQUE

- Stimulations cholinergiques -

Le type en est la stimulation vagale par décharge d'acétyl-choline. Les mécanismes cholinergiques stimulent donc la sécrétion peptique : choline, acétyl-choline ou ses dérivés actifs, inhibiteurs de la cholinestérase tels la pilocarpine ou succinyl-choline. Cette stimulation est abolie par l'atropine. Il n'y a pas d'action directe sur la synthèse du pepsinogène ; et l'atropine qui bloque l'action cholinergique n'interfère pas dans la synthèse du pepsinogène comme pourrait témoigner l'apparence de la cellule principale sous son influence.

- Stimulation par histamine -

La réponse est différente selon l'espèce.

L'histamine peut ne pas stimuler la sécrétion peptique.

Ceci a été constaté chez le chien, le chat, etc... et chez l'homme. On peut penser que la hausse initiale de concentration peptique observée parfois est due au "Washing out" du pepsinogène préformé au niveau des tubules.

Kowalewski a remarqué que l'histamine n'inhibe pas et peut même augmenter la synthèse du pepsinogène chez le chien ; après stimulation prolongée d'histamine, les cellules contiennent encore de nombreuses granulations.

L'histamine peut ne pas inhiber la sécrétion peptique.

Après administration de fortes doses d'histamine chez le rat, on est arrivé aux résultats suivants :

Le débit des pepsines est inversement proportionnel aux doses d'histamine. Des doses d'histamine supérieures à 6 mg par heure sont excessives et tuent souvent les animaux.

L'histamine, enfin, peut stimuler la sécrétion peptique.

Pour la plupart des auteurs, après vagotomie et sur l'estomac sain, l'histamine stimule la sécrétion peptique chez l'homme. Certains ont pensé que l'histamine ne stimulait pas la sécrétion peptique, mais provoquait un "washing out" de la pepsine, constatant initialement une augmentation de concentration, puis un retour à la concentration de peptique de base. Il faut cependant faire intervenir le débit de pepsine qui, après injection intra-veineuse d'histamine croît, pour atteindre un plateau correspondant à trois ou quatre fois le débit de base. Ces résultats ont été retrouvés chez les mammifères.

- Caféine -

Approximativement, la caféine a une action semblable à celle de l'histamine. Elle n'agit pas en libérant l'histamine, bien que l'effet de leur association soit additif, mais moins important que celui de la pilocarpine.

- Hyperventilation -

L'hyperventilation entraîne une alcalose qui diminue la sécrétion d'acide et augmente la sécrétion peptique. L'expérience a été pratiquée sur l'homme : l'hyperventilation volontaire pendant environ une demi heure entraîne une tétanie, augmente les concentrations peptiques, parfois de 30 % celles obtenues par stimulation hypoglycémique du vague. On peut obtenir ce résultat dans les conditions de base ou sous stimulation histaminique, après vagotomie ou sous atropinisation forte chez l'homme. C'est un phénomène muqueux qui paraît local.

L'hyperventilation forcée chez le chien n'a pas reproduit cette action. L'injection intra-veineuse de bicarbonate aggrave le phénomène, des doses importantes de gluconate de calcium le préviennent.

APPRECIATION DE L'ACTIVITE PEPTIQUE DE L'ESTOMAC

L'appréciation de l'activité peptique de l'estomac se fait en dosant la pepsine à des temps variables, après prélèvement du suc gastrique par tubages.

Le principe du titrage peptique de l'échantillon prélevé est de faire réagir cet enzyme sur un substrat. La pepsine peut agir sur un grand nombre de substrats. Il existe donc divers types de titrages.

L'activité peptique, fonction des transformations d'une solution protéique peut être évaluée en somme : par le changement de viscosité du milieu, par le calcul de l'azote protéique perdu, l'apparition de peptides, l'augmentation des groupes aminés.

L'apparition de peptides est la méthode la plus utilisée. Etablie par Anson, elle est aujourd'hui améliorée.

Le substrat est une solution d'hémoglobine dénaturée par l'acidification. On met en présence des solutions d'enzyme et d'hémoglobine pendant un temps

donné. On arrête la réaction par addition d'acide trichloracétique qui précipite la protéine non digérée. Puis par le réactif de Folin-Ciocalteau (réactif des phénols) on dose après filtration et centrifugation, la tyrosine et les peptiques contenant du tryptophane. On utilise comme standard la tyrosine. Cette méthode est simple, ne demande qu'un pH inférieur à 2,5 ; les autres conditions sont larges.

Les résultats ont été exprimés par Anson et Mirsky en milliéquivalents par dix minutes. Actuellement, l'unité standard est dix mille fois plus petite.

L'activité peptique de l'estomac se reflète dans les taux de pepsinogène plasmatique et urinaire.

- La présence de pepsinogène dans le sang a été vérifiée par un concours de circonstances. De nombreux auteurs avaient noté l'existence dans le sang d'un enzyme protéolytique actif à pH très acide, en si petites quantités qu'il ne fut pas possible de l'isoler chimiquement. Sa disparition rapide du plasma après gastrectomie a permis son identification.

Son passage dans le sang se fait directement, sans l'intermédiaire des canaux lymphatiques. Il semble que la désintégration des cellules peptiques explique ce passage du pepsinogène dans le sang. Les taux de pepsinogène plasmatique ont pu être mis en rapport avec la capacité sécrétoire des cellules principales.

- Brucke, en 1861, cherchant un enzyme protéolytique dans l'urine, actif en milieu acide, a pensé qu'il s'agissait de la pepsine. Cet enzyme urinaire était du pepsinogène (Gehrimg, puis Fuld et Hirayama) encore appelé uropepsine (Bendersky).

Son origine est essentiellement gastrique. L'absence virtuelle de pepsinogène urinaire après gastrectomie totale indique que, quelles que soient les sources extra-gastriques, elles contribuent peu à la formation de l'uropepsine.

Il existe un rapport entre le pepsinogène urinaire et la pepsine gastrique (à l'état basal), pour

Janowitz et Hollander, entre l'excrétion urinaire quotidienne de pepsinogène et la concentration maximum de pepsine gastrique après stimulation histaminique pour Aitken. D'autres auteurs n'ont pas trouvé de relations étroites entre ces deux substances urinaire et gastrique.

Enfin, les stimulants de sécrétion gastrique n'ont pas une action toujours parallèle sur le taux de pepsinogène plasmatique et urinaire.

La partie originale de ce travail concerne les différents points techniques se rapportant aux dosages de l'activité du suc gastrique.

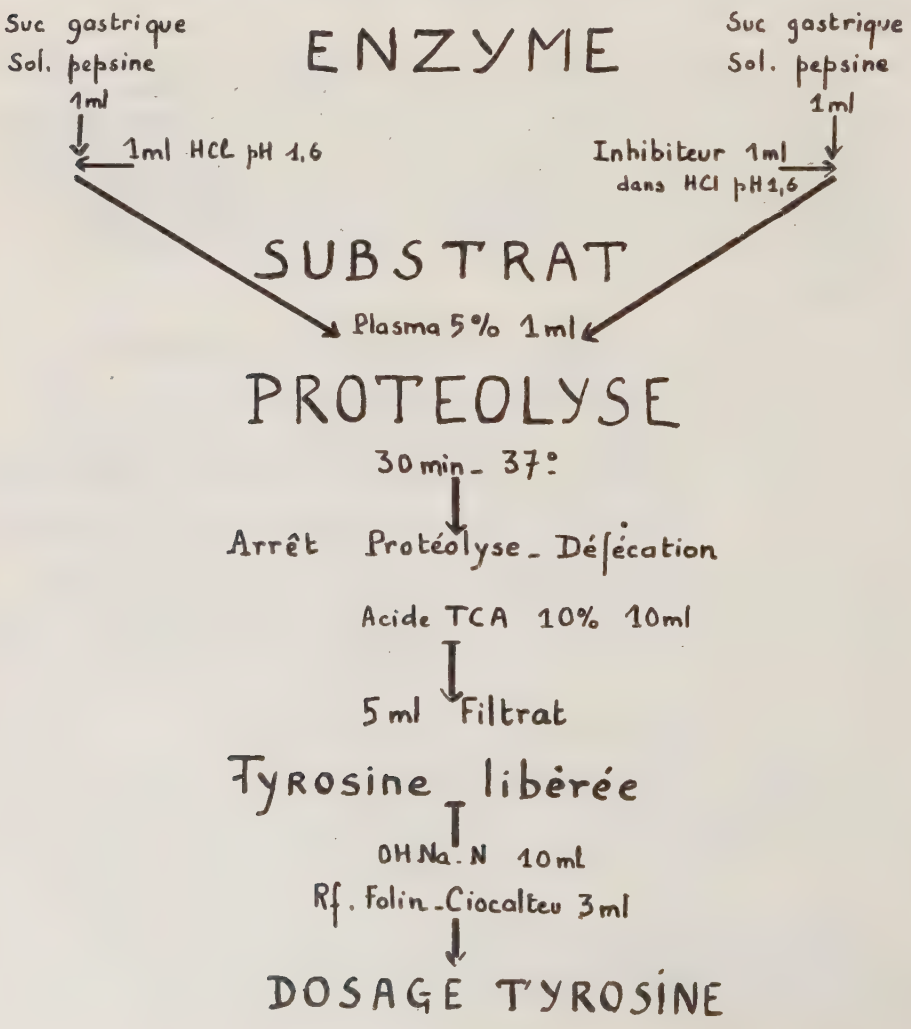
Nous décrirons d'abord notre technique, en la comparant à celles de Anson et de Hunt dont elle est dérivée. Puis nous étudierons dans les chapitres suivants, après avoir fait quelques réserves dans l'expression des résultats, les différents points caractérisant et déterminant la réaction enzymatique, et nous justifierons aussi les critères que nous avons choisis pour nos dosages :

- étude de la cinétique de la réaction,
- étude des variations du pH,
- problèmes du mucus présent dans le suc gastrique (centrifugation du suc gastrique),
- étude des substrats : nature et concentration,
- cette réaction enzymatique se fait à une température constante que nous avons choisie à 37° cg parce qu'elle est celle de l'organisme.

TECHNIQUE DE DOSAGE

La méthode la plus utilisée, nous l'avons vu, pour l'appréciation de l'activité peptique et l'apparition de peptides après protéolyse d'un substrat défini en un temps donné, à température fixe.

Notre technique de dosage répond à ce principe. Le tableau suivant schématise cette technique :



Nous avons choisi comme substrat, du plasma à 5 % - intéressant du fait de sa relative constance de composition - en solution dans de l'acide chlorhydrique de pH 1,6. La dilution du suc gastrique au cours du dosage est peu importante (un demi ou un quart).

Nous avons fixé la durée de la digestion protéolytique à trente minutes et la température à 37°.

Cette réaction enzyme-substrat libère de la tyrosine que l'on dose par le réactif de Folin-Ciocalteu par rapport à une courbe étalon de tyrosine.

Cette technique de dosage est comparable à celles d'Anson et de Hunt ou de Lorthioir qui sont basées sur le même principe. Cependant :

- la technique d'Anson est différente par l'utilisation d'un autre substrat, l'hémoglobine à 2,5 %, et par la dilution importante du suc gastrique. La température et la durée de la protéolyse sont respectivement de 35°5 et de dix minutes.

- La technique de Hunt est plus proche de la nôtre. Cet auteur utilise le même substrat : plasma à 5 ou 3 %. Le taux et le mode de dilution sont les mêmes. Le réajustement du pH, cependant, se fait à une valeur légèrement supérieure : 2,1 et la digestion peptique est arrêtée à vingt minutes.

Pour Hunt, il existe un rapport constant entre l'activité peptique et la couleur produite par le réactif de Folin comparée à celle d'une solution standard de phénol.

- Lorthioir est partisan de la centrifugation systématique du suc gastrique. Il dilue le surnageant au cinquantième, prélève un millilitre de la solution ramenée à un pH 1,5 et rapportée à vingt cinq millilitres. Il fait agir un millilitre du mélange obtenu sur le substrat : hémoglobine à 2,5 % pendant une heure à 37°.

Si nous n'avons pas adopté purement et simplement l'une de ces dernières techniques, certaines critiques en sont la raison.

- Les dilutions importantes des sucs gastriques ne donnent pas une proportionnalité satisfaisante dans les résultats (phénomène général en enzymologie, exemple : transaminases, amylases sériques, etc...).

Il existe une bonne proportionnalité que nous avons vérifiée pour un dosage clinique, par dosage de l'activité peptique d'un suc gastrique :

- pur,
- dilué de moitié,
- dilué au quart.

Cependant, les dilutions excessives ont un intérêt certain dans la comparaison (Lorthioir) des activités peptiques dans des milieux différents tels : le plasma et l'urine.

- L'utilisation du substrat à 5 % permet de doser sans dilution excessive, des activités peptiques importantes rencontrées au cours d'ulcères duodénaux.

- Le temps de protéolyse de trente minutes permet des dosages en série sans trop de précipitation et donne toutes garanties.

EXPRESSION DES RESULTATS

Puisque nous nous limitons aux techniques de protéolyse d'un substrat protéique défini, il serait souhaitable en toute logique d'étalonner l'activité peptique d'un suc gastrique par rapport à une quantité d'enzyme cristallisée. Tous les auteurs ont été d'accord pour renoncer à un tel étalonnage, du fait des difficultés considérables auxquelles ils se sont heurtés. Ces difficultés sont liées à deux faits essentiels :

- la non standardisation des unités de pepsine.

Nous pouvons comparer les principaux types de pepsine suivant les techniques respectives des pharmacopées, dans le tableau suivant :

PHARMACOPEES	FRANÇAISE	NATIONAL FORMULARY	BRITISH	BELGE	HELVETIQUE
Pepsine Type	Titre %	Titre %	Titre %	Titre %	Titre %
Français	200	1.600	2.750	550	56
U.S.	300	3.000	3.300	750	110
Anglais	180	-	2.500	350	50
Belge	90	-	-	250	28
Suisse	300	2.700	3.000	700	83

Dans ce tableau, les chiffres représentant les titres indiquent le rapport entre le poids de substrat humide et les poids d'enzymes, sauf pour la pharmacopée helvétique,et le poids est exprimé en poids sec.

Les colonnes verticales indiquent les valeurs respectives des différents types de pepsines lorsqu'elles sont dosées d'après la pharmacopée figurant en tête de colonne.

Les lignes horizontales donnent les valeurs d'un même type de pepsine, titrées d'après les techniques des différentes pharmacopées.

Les méthodes utilisées en vue de l'expression quantitative des résultats étant approximatives, les rapports figurant sur ce tableau n'ont qu'une valeur pratique d'approche.

- La difficulté de conservation de la pepsine

La pepsine perd en effet progressivement son activité comme le montre le tableau suivant :

Dates des dosages	Pepsine	Activité peptique
28. VI	15 mg	1080
13. X	"	800
20. X	"	800
9. XI	"	650

Comment a donc été résolu le problème de l'expression des résultats :

- Pour Anson, l'unité de pepsine doit être considérée comme toutes les unités d'enzyme protéolytique. Cette unité est définie par rapport à la digestion de l'hémoglobine. Cependant, elle se base sur des considérations très théoriques.

C'est la quantité d'enzyme capable de libérer par minute, dans la période initiale de la réaction enzymatique, une quantité de produits de scission non précipitée par l'acide trichloracétique donnant une réaction colorée avec les réactifs des phénols équivalente à celle d'un milligramme de tyrosine.

En pratique, la digestion d'hémoglobine est faite sur dix minutes et le résultat est donné en milliéquivalent-tyrosine : pU 10-35°5 ou pU 10-37'.

- Pour Hunt, il existe un rapport constant entre l'activité peptique et la couleur produite par le réactif de Folin, comparée à celle d'une solution standard de phénol :

" uh suc gastrique standard ayant 50 unités d'activité peptique par millilitre, dans les conditions standard d'estimation, donne une couleur équivalente à deux millilitres d'une solution de phénol (cinq milligrammes/ pour cent millilitres)".

- Lorthioir étalonne ses résultats par rapport à une gamme de tyrosine, c'est la solution que nous avons retenue malgré les critiques explicites de Hunt concernant le tryptophane. Les courbes étalons de tyrosine sont reproductibles facilement et sont constantes à plusieurs mois d'intervalle. Enfin, la tyrosine des "Biochimiques Roche" que nous utilisons est stable.

Dans nos résultats, nous exprimons l'activité peptique en microgrammes de tyrosine libérée par millilitre de milieu peptique (suc gastrique) utilisé. Le suc gastrique contenant toujours une certaine quantité

de corps donnant la réaction des phénols (" tyrosine-endogène"), l'activité peptique d'un suc gastrique est exprimée, en fait, par la différence de ces deux valeurs.

°
° °

TYROSINE ENDOGENE

La méthode de dosage de la pepsine que nous utilisons donne des résultats exprimés en microgramme-tyrosine libérée par millilitre. Le taux de tyrosine libérée est apprécié par la coloration après réaction des phénols. Cette réaction est aussi donnée par une certaine quantité de substances du liquide gastrique.

Cette quantité de substances, nous l'appelons "tyrosine endogène". Il est évident que, dans l'expression des résultats, il faut soustraire des chiffres trouvés le chiffre de tyrosine endogène qui doit être mesuré avec précision pour chaque essai.

Le plus fréquemment, comme examens complémentaires, sont demandés les dosages pratiqués après stimulation histaminique ou insulinique.

Il était intéressant de noter la variation de la tyrosine endogène, tout d'abord dans les conditions de la stimulation histaminique.

Les résultats moyens que nous avons obtenus sur cent quarante deux tubages gastriques sont concrétisés dans le tableau suivant :

	Pot B	Pot maximum	Différence	Pourcentage
TYROSINE ENDOGENE moy.	115	155	40	35 %
ACTIVITE PEPTIQUE moy.	800	1300	500	60 %

Dans le tableau, le Pot B est le pot dans lequel on dose la tyrosine endogène et l'activité peptique avant la stimulation.

Le pot maximum correspond au pot où les chiffres de tyrosine endogène et de l'activité peptique sont les plus élevés.

La stimulation histaminique augmente donc en moyenne la tyrosine endogène dans des proportions dont il faut tenir compte.

Le calcul de la valeur moyenne donne une idée grossière des variations de la tyrosine endogène. Une analyse systématique des cent quarante deux dosages par comparaison de la valeur maximum de la tyrosine endogène à celle du Pot B donne les résultats suivants :

- Dans vingt cas, la tyrosine endogène diminue. L'activité peptique est alors soit élevée (onze fois), soit faible (six fois). Il n'existe donc pas de relation entre la valeur de l'activité peptique et la tyrosine endogène.

- Dans trente trois cas, la tyrosine endogène reste stable,

- et dans quatre vingt neuf cas, elle augmente.

Cette évolution n'est pas harmonieuse : du Pot B au pot maximum ou minimum après stimulation histaminique, les valeurs de la tyrosine endogène peuvent être très différentes. La valeur maximum de la tyrosine endogène par rapport au Pot B peut se situer aux pots extrêmes (1-5-6) et la tendance générale de la tyrosine endogène peut être de diminuer par rapport au Pot B.

Sur les mêmes dosages que précédemment, on relève :

- une diminution de la tyrosine endogène dans soixante dix sept cas, après la stimulation,

- une augmentation dans cinquante cas et une stabilité dans vingt cinq cas.

C'est presque exclusivement dans le cas où la tyrosine endogène augmente que se situent les gastrites. Ceci est intéressant à souligner, du fait qu'il en existe une explication logique.

Une gastrite entraîne en effet un exsudat de protéine endogène.

Finalement, la seule conclusion que l'on puisse tirer des constatations précédentes est que la tyrosine endogène varie avec la stimulation histaminique.

Cette variation de la tyrosine endogène nous a amenés à suivre son évolution dans les tubages, après le jeûne, la stimulation histaminique, et stimulation insulinique chez les mêmes sujets (dix-huit dosages triples).

Nous avons pris, là encore, la moyenne des résultats de chaque dosage.

- Le jeûne entraîne une augmentation de la tyrosine endogène de soixante partant d'une valeur de quatre vingt dix gammas. En même temps, l'activité peptique augmente de trois cent vingt M , sa valeur au départ étant de neuf cent trente gammas.

- La stimulation histaminique fait passer la tyrosine endogène de quatre vingt quinze à cent trente et en même temps l'activité peptique s'élève de mille à mille quatre cent vingt

- Enfin la stimulation insulinique fait augmenter la tyrosine endogène de soixante cinq microgrammes par millilitre, l'activité peptique passe de neuf cent quatre vingt dix à mille cinq cent soixante microgrammes par millilitre soit une augmentation de cinq cent soixante dix microgrammes par millilitre.

Dans le détail de ces dix huit dosages, on observe après toute stimulation, pratiquement toujours,

une augmentation de la tyrosine endogène, mise à part trois cas.

On enregistre donc pour tyrosine endogène des valeurs de départ très voisines au Pot B et dans tous les cas on note une augmentation après stimulation.

Après jeûne ou insuline (stimulations analogues), l'augmentation de tyrosine endogène est sensiblement la même, plus forte qu'après histamine. Cette augmentation n'est donc jamais susceptible de fausser le dosage.

ETUDE DU pH OPTIMUM

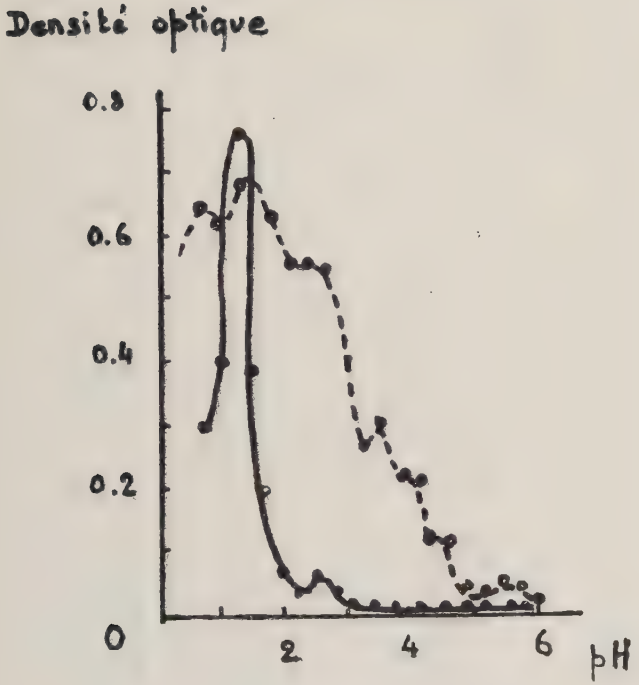
Comme pour toute étude enzymatique, il est important de se mettre dans les conditions optima de pH. En fait, si l'on situe habituellement le pH optimum de la pepsine entre 2,5 et 3,5, des études plus systématiques montrent l'existence de plusieurs optima. Ceci est probablement dû à la pluralité des pepsines ainsi qu'à l'association de l'activité de la cathepsine (Pope, Stevens). Voir courbe ci-contre.

Sur un plan plus clinique, Lorthioir et Fossoul ont étudié les variations de l'activité protéolytique en fonction du pH qu'ils font varier de un à six.

Nous avons signalé combien leur technique diffère de la nôtre. Nous donnons ici l'une de leurs courbes

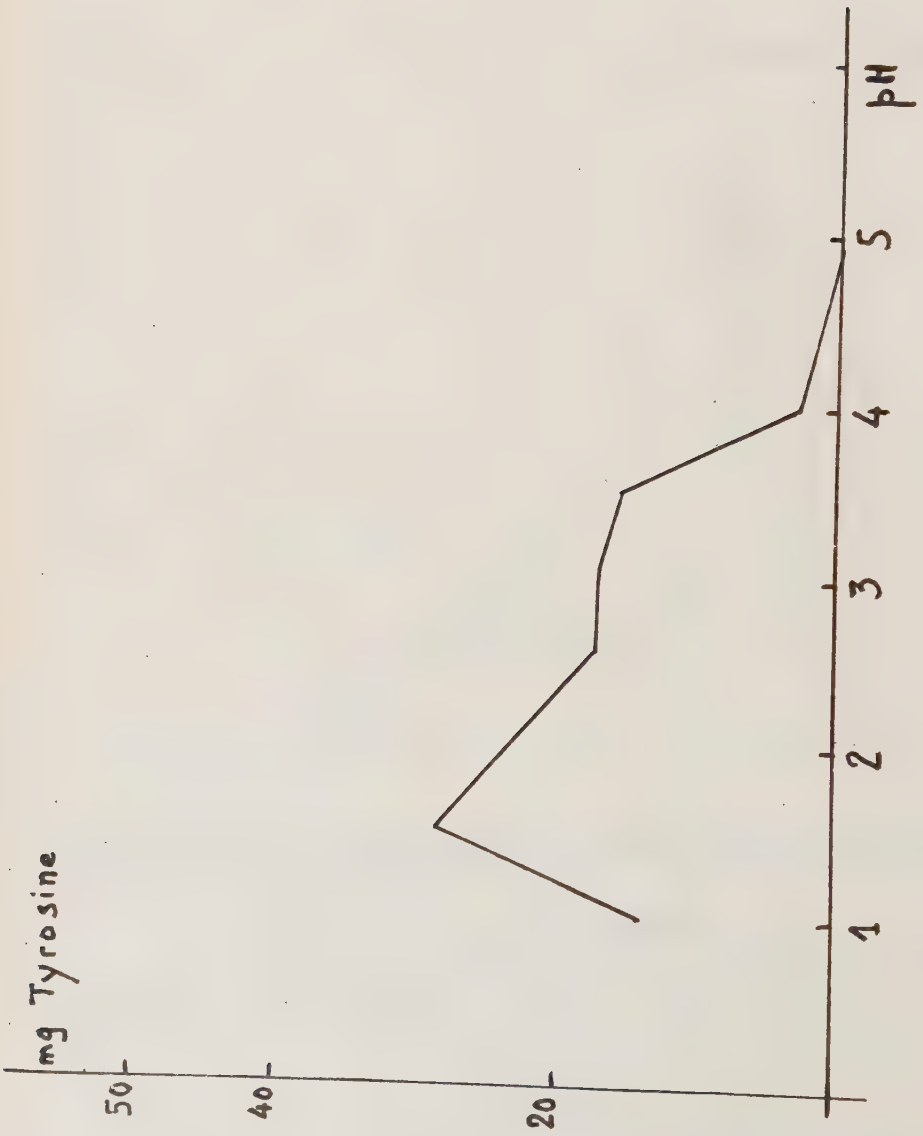
Cette courbe est éloquente, montrant un pic d'activité peptique à 1,6 environ, montrant aussi qu'il faut faire une correction importante de l'activité peptique si l'on ramène le pH alcalin d'un dosage au pH 1,6 que nous choisissons comme pH optimum.

Nous avons donc cherché à préciser les variations d'activité que provoque ce réajustement à pH 1,6.



Action de la pepsine et d'une de ses fractions sur l'hémoglobine de cheval.

(Pope C.G ~ Stevens M.F)


mg Tyrosine
50
40
20
1
2
3
4
5
pH

Dans le tableau ci-dessous sont présentés les résultats de la moyenne des activités peptiques à pH spontané et à pH corrigé de 94 de nos échantillons. -

pH spontané	Nbre de cas	Activité peptique moy.à pH spontané	Activité peptique moy.à pH corrigé	Diff.	Pourcentage
supérieur à 6	13	142	179,5	+ 37,5	+ 26,5 %
entre 4 et 5	41	356,6	298,2	- 58,4	- 19,5 %
entre 2 et 3,8	40	572,1	488,45	- 83,65	- 17,1 %

L'ajustement du pH, on le constate, est loin d'avoir toujours les mêmes conséquences. Sans doute, pour liquides de pH spontané, supérieur à 6 observe-t-on constamment une augmentation de l'activité peptique (26 %). En fait, cette correction répond à une différence absolue d'activité peptique relativement peu importante car les liquides fortement hypoacides sont aussi fortement hypo-peptiques (gastrite, et à l'extrême, maladie de Biermer).

A pH entre 4 et 5, le réajustement à 1,6 provoque, au contraire, une diminution de l'activité peptique relativement peu importante, elle encore, dans l'absolu, pour les mêmes raisons que précédemment.

Enfin, l'ajustement à 1,6, dans pH entre 2 et 3,8 provoque aussi une diminution de l'activité peptique tout au moins en moyenne, mais en fait manifeste dans plus de la moitié des cas.

En somme, le réajustement de pH provoque des modifications assez peu importantes d'activité peptique qui, dans les cas extrêmes, peut atteindre deux cent quatre vingt dix microgrammes par millilitre soit de l'ordre de 20 %.

Théoriquement, ces faits peuvent paraître paradoxaux. Pratiquement, cependant, ils s'expliquent bien par la pluralité des pepsines et la présence de cathepsine.

On peut donc estimer que le fait de travailler constamment à pH 1,6 permet de comparer toujours la même fraction peptique, alors même que le pourcentage de celle-ci doit être susceptible de varier d'un malade à l'autre.

En conséquence, pratiquement, cet ajustement de pH qui ne pose pas de gros problèmes techniques, nous paraît souhaitable. Il faut en faire, cependant, toujours mention de manière à ce que des comparaisons abusives ne soient pas faites avec d'autres travaux effectués à d'autres pH. On doit d'ailleurs noter que l'introduction du substrat pour l'étude de la digestion change le pH final de l'étude enzymatique puisqu'il s'agit d'une protéine amphotère et que le pH se situe à 3,5 environ.

(Notons à ce sujet que le pH optimum de la cathepsine se situe aux environs de 5).

Des essais complémentaires nous ont cependant montré que l'ajustement du milieu final à 1,6 ou à 2,5 n'apportait pratiquement pas de correctif par rapport aux résultats obtenus à 3,5.

PROBLEME DE LA CENTRIFUGATION

Prélevé par tubage, le liquide gastrique se présente comme un milieu hétérogène. Il contient, en dehors des débris alimentaires que l'on ne doit pas trouver chez le malade bien préparé, des flocons de mucus plus ou moins abondants.

En théorie, la présence de mucus peut fausser les résultats de deux manières :

- soit en pénétrant dans la pipette du prélèvement, donc en faussant la mesure de la prise d'essai ;

- soit par le pouvoir inhibiteur qu'il possède vis-à-vis de la pepsine. Cette action inhibitrice a été suggérée par Babkin et Komarov : la pepsine entrerait en combinaison avec l'acide mucoïtine sulfurique libéré par la mucine. La couche mucineuse superficielle absorberait la pepsine, diminuant ainsi son action enzymatique. En retour le mucus protègerait également la pepsine contre la destruction par l'acide chlorhydrique. Acide et ferment se trouvent maintenus dans les limites de leur activité physiologique par ce système régulateur.

Etudiant sous tubage histaminique la variation des deux composants du mucus, Cornet trouve une augmentation nette de celui-ci à la vingtième et à la soixantième minute. Parallèlement, nous avons observé qu'après centrifugation les pots 2 (30 minutes) et 6 (90 minutes) (technique de Lambling et Bernier) avaient une activité

peptique supérieure à celle du suc entier. On pourrait donc penser avec Babkin que l'inhibition de la pepsine est liée à l'augmentation du pouvoir-tampon (en dehors de tout reflux), à ces mêmes moments. Par exemple, un pouvoir-tampon à vingt permet, après centrifugation, de faire passer l'activité peptique de huit cent cinquante à mille cinquante microgrammes par millilitre.

Faut-il, en conséquence, pratiquer systématiquement une centrifugation sur le liquide gastrique, comme le fait Lorthioir.

Nous avons entrepris un certain nombre d'essais dans ce sens ; nous avons comparé trente sept dosages entre eux dont quatorze et vingt et un ont été faits respectivement sur des échantillons de suc de deux autres malades. Les résultats sont précisés dans le tableau suivant :

	suc brut	suc centrifuge	variations
Groupe A 20 cas (54 %)	950	1240	dm = 290 + 30 % dM = 780
Groupe B 13 cas (35 %)	1500	1220	dm = - 280 - 23 % dM = - 630
Groupe C 4 cas (10 %)	1380	1380	0 %

Dans la majorité des cas, environ la moitié, l'activité peptique du suc centrifugé est supérieure à celle du suc brut. Ceci confirme l'hypothèse de l'introduction d'une erreur par la présence de mucus.

C'est ce que laissait prévoir un travail assez détaillé de Bradley, étudiant les effets de la mucine

sur la digestion peptique. Cet auteur met en présence de la pepsine en milieu acide et de la fibrine brute. Dans un même temps, il ajoute à l'enzyme et au substrat, de la mucine. Il compare les résultats en faisant varier le pH.

- A pH = 3, la mucine n'a pas d'action.

- A pH = 2, on observe une réduction de la digestion peptique qui est encore nette au troisième jour et dont le pourcentage est plus important dans les temps courts.

- A pH = 1,2, il y a un retard d'activité qui n'est compensé qu'après vingt quatre heures.

- A pH = 0,6, cette même compensation ne s'effectue qu'au troisième jour.

En fait, nous devons noter que cette inhibition varie avec le pH et que son mécanisme est loin d'être bien connu.

De plus, nous remarquons que dans trente cinq pour cent des cas, nous obtenons une diminution de l'activité peptique, alors que toutes les causes d'erreur liées à la présence du mucus semblent jouer en sens inverse.

La centrifugation systématique préalable du suc gastrique est donc susceptible d'introduire des facteurs de variation sans correspondance physiologique.

En fait, l'essentiel est de connaître le pouvoir peptique du suc présent dans l'estomac en tenant compte globalement de toutes les variables connues et inconnues.

C'est pour ces raisons que nous ne pratiquons pas la centrifugation préalable sur les prélèvements faits sur le suc gastrique, sauf dans les cas exceptionnels où le mucus est tellement abondant que le pipetage est impossible.

CHOIX DU SUBSTRAT OPTIMUM DE CONCENTRATION

La meilleure méthode d'étude de la spécificité d'un enzyme protéolytique pour Ryle serait de s'adresser à un substrat synthétique qui, par définition, est stable.

Rapportant les résultats de Bergmann et Fruton, Harington, Dekker, sur trois substrats synthétiques différents, Ryle conclut que "si un résidu acide n'est pas essentiel à l'action de la pepsine sur un substrat synthétique, la proximité d'un groupe alpha-aminé est inhibiteur à degré variable".

L'action de la pepsine sur deux substrats différents a été étudiée par Denuelle. Ces substrats sont la globine de cheval et l'albumine de l'oeuf. Cet auteur montre l'existence de deux phases dans la digestion de la globine de cheval.

Une première étape va jusqu'à la formation de dodécapeptide, la seconde jusqu'à la formation de tri ou tétrapeptides. Quant à la digestion de l'albumine d'oeuf, celle-ci ne peut être définie spécifiquement.

Des études théoriques n'ont pas été aussi poussées sur les substrats qu'utilisent Anson, Hunt et nous-mêmes, c'est-à-dire : l'hémoglobine, le plasma et la sérum-albumine humaine. Nous les avons étudiés à des concentrations variables. Le premier facteur sur lequel nous nous penchons est le critère de bonne homogénéisation de la solution de base.

Pour obtenir une bonne homogénéisation, l'hémoglobine doit être faiblement concentrée. Il est donc nécessaire, pour le dosage, de diluer le suc gastrique d'une manière importante si l'on veut obtenir une ciné-

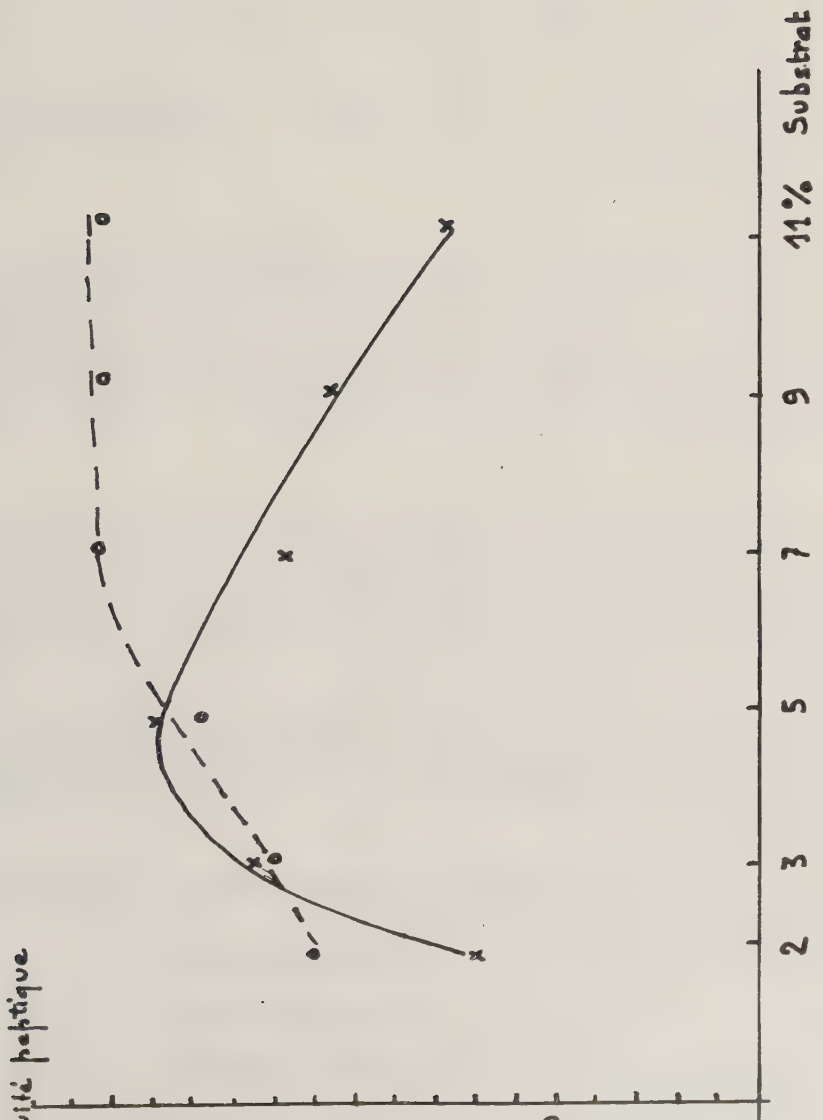
tique correcte. Nous avons déjà signalé les inconvénients des fortes dilutions et, pour notre part, nous éliminerons ce substrat, idéal toutefois pour les dosages de pepsinogène sanguin.

L'homogénéisation du plasma et de la sérum-albumine ne pose pas de problème. Nous avons comparé les activités peptiques en fonction de concentrations variables de ces deux substrats :

Pourcentage concentration	Plasma	Sérum-albumine
2 %	700	1100
3 %	1250	1200
5 %	1470	1250
7 %	1200	1620
9 %	1090	1640
11 %	770	1650

La courbe ci-contre des activités peptiques pour un temps donné, obtenue à partir d'un suc gastrique de forte activité peptique (ulcère duodénal) montre pour :

- la sérum-albumine, que la concentration à 2 % est trop faible puisque l'activité peptique est minimum (1100). La courbe est croissante jusqu'à 7 % pour se maintenir en plateau.


o S.albumine
x Plasma
Activité peptique
1500
1000
500
2
3
5
7
9
11 % Substrat

La concentration optimum pour ce suc gastrique serait donc ici de 7 % et peut être considérée comme idéale.

Pour le plasma, la concentration de 2 % est, là encore, trop faible. Le substrat en quantité insuffisante provoque un résultat faible d'activité peptique (700). Entre 3 et 5 %, il existe un plateau où les activités trouvées sont maxima. Au-dessus de 5 %, on observe un fait paradoxal en apparence, la décroissance de la courbe. La diminution d'activité peptique s'explique par la présence d'un inhibiteur plasmatique dont la concentration augmente avec une augmentation de concentration de substrat.

Si nous comparons les deux courbes obtenues avec le plasma et la sérum-albumine, on observe qu'à 3 % les activités peptiques trouvées sont identiques (1250 pour le plasma et 1200 pour la sérum-albumine), et qu'à 5 % il existe une différence très minime alors que pour les concentrations extrêmes les courbes se dissocient.

La sérum-albumine serait le substrat idéal à concentration de 7 %, mais le choix que nous avons fait antérieurement du plasma humain périmé des banques de sang, donne des garanties suffisantes dans les dosages d'exploration, de sécrétion gastrique chez les malades.

Nous venons de raisonner sur de fortes activités peptiques. Il était nécessaire de vérifier si, pour des activités moyennes ou faibles, le pourcentage de 5 % de concentration ne nous faisait pas commettre d'erreur.

Aussi, avons-nous comparé dans les tableaux suivants les activités peptiques :

- d'un suc A de forte activité,
- d'un suc B d'activité moyenne,
- d'un suc C de faible activité

à des taux de dilution variables.

SUC PUR

	1,8 %	3 %	5 %	9 %
Suc A	1200	1500	1500	1000
Suc B.	900	1250	1150	700
Suc C	400	700	550	400

SUC DILUE

A 1/2	1,8 %	3 %	5 %	9 %
Suc A	800	1100	850	350
Suc B	750	1000	750	250
Suc C	500	600	400	220

SUC DILUE

A 1/3	1,8 %	3 %	5 %	9 %
Suc A	700	800	620	200
Suc B	650	750	450	100
Suc C	420	470	200	0

Ces résultats sont comparés et résumés par les courbes ci-contre.

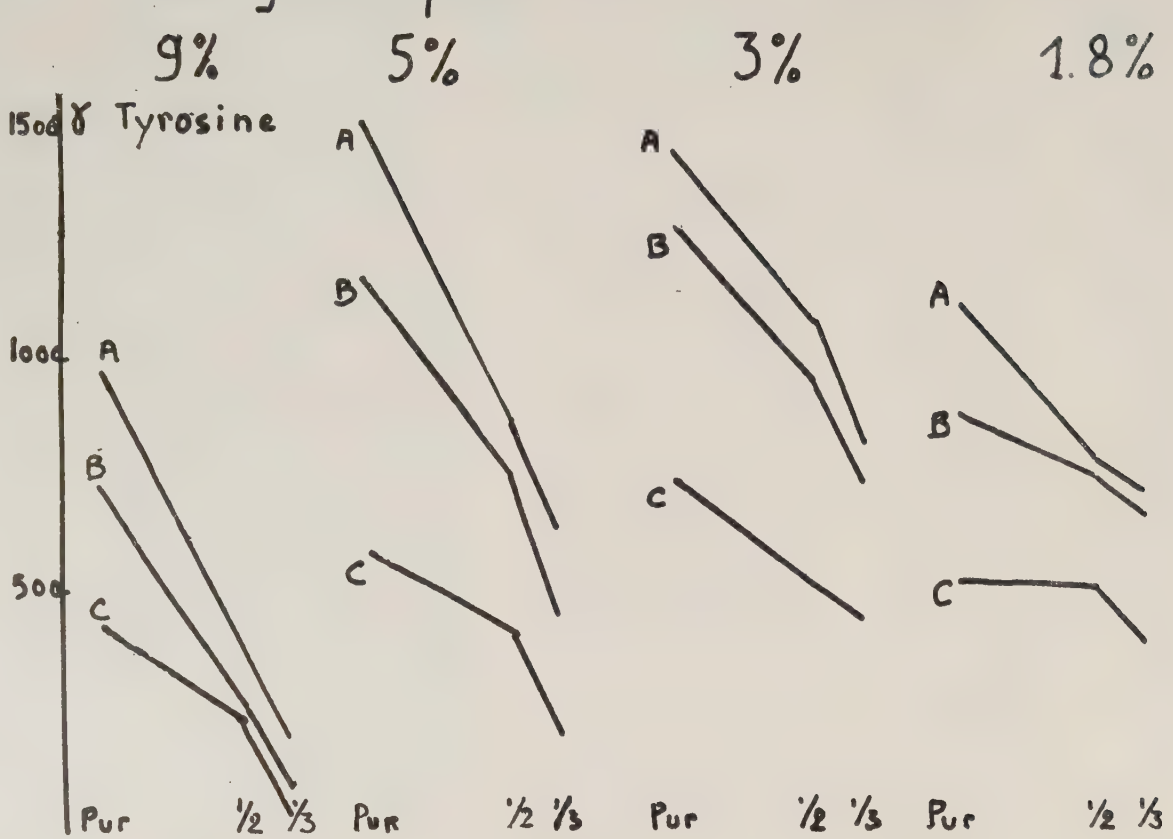
En conclusion, une concentration de 1,8 % de substrat est trop faible ; des concentrations situées entre 3 et 5 % sont acceptables pour un suc de bonne activité.

Le cas du suc C, de faible activité peptique, et la faiblesse des résultats obtenus par la digestion d'un substrat dont la concentration est de 9 %, quelles que soient la dilution du suc gastrique et la valeur de son activité peptique, mettent en évidence la présence de substances inhibitrices du plasma.

La concentration de 5 % de plasma que nous choisissons pour les dosages de routine présente donc les garanties suffisantes de proportionnalité et de sensibilité.

° ° °

Sucs gastriques A.B.C . Plasma



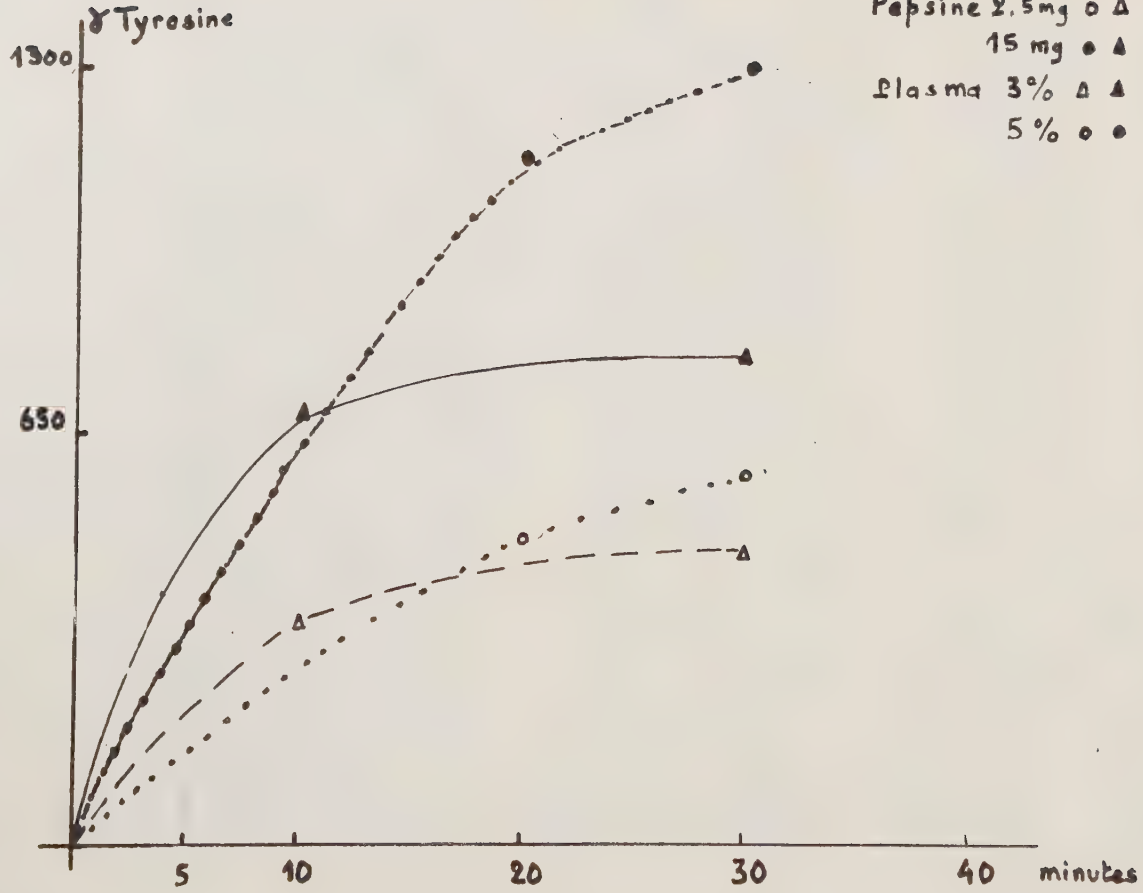
ETUDE DE LA CINETIQUE

Etudier la cinétique de cette réaction enzyme-substrat, revient à calculer la quantité de tyrosine libérée en un temps variable pour un substrat donné et un enzyme fixe.

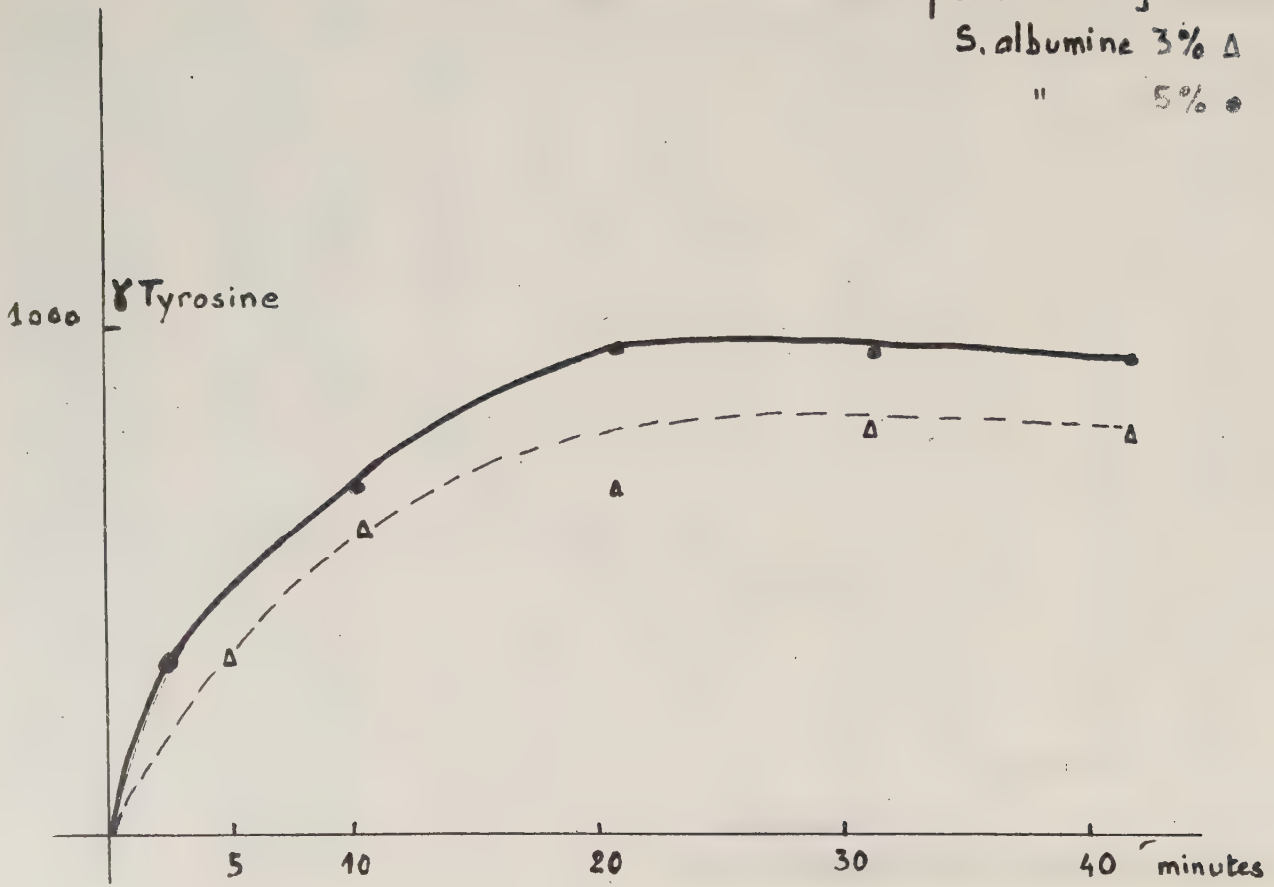
En premier lieu, nous avons étudié la variation de concentration de tyrosine libérée du plasma à 5 % par un lot de pepsine peu active à la concentration de 2,5 milligrammes par millilitre et de 15 milligrammes par millilitre. Nous avons obtenu les courbes (voir p. 37 bis, 37 ter).

Ces courbes montrent qu'à la concentration de 2,5 milligrammes par millilitre de pepsine, l'activité peptique variant de cinq cent vingt microgrammes par millilitre à six cent quarante microgrammes par millilitre, de vingt à trente minutes, il existe un plateau. On retrouve, entre ces deux temps, un palier : mille deux cent vingt à mille trois cent quarante microgrammes par millilitre sur deux essais différents et pour une concentration de quinze milligrammes par millilitre de pepsine.

Si la concentration de plasma est de 3 %, la concentration de pepsine étant de 2,5 milligrammes par millilitre, l'activité peptique croît rapidement jusqu'à dix minutes et de dix à trente minutes augmente de trois cent soixante dix à cinq cent microgrammes par millitre, ce qui est faible. Pour une concentration de pepsine de quinzè milligrammes par millilitre, l'activité peptique passe de sept cent cinquante à huit cent cinquante microgrammes par millilitre de dix à trente minutes. On observe donc, ici encore, un plateau d'activité peptique de dix à trente minutes.

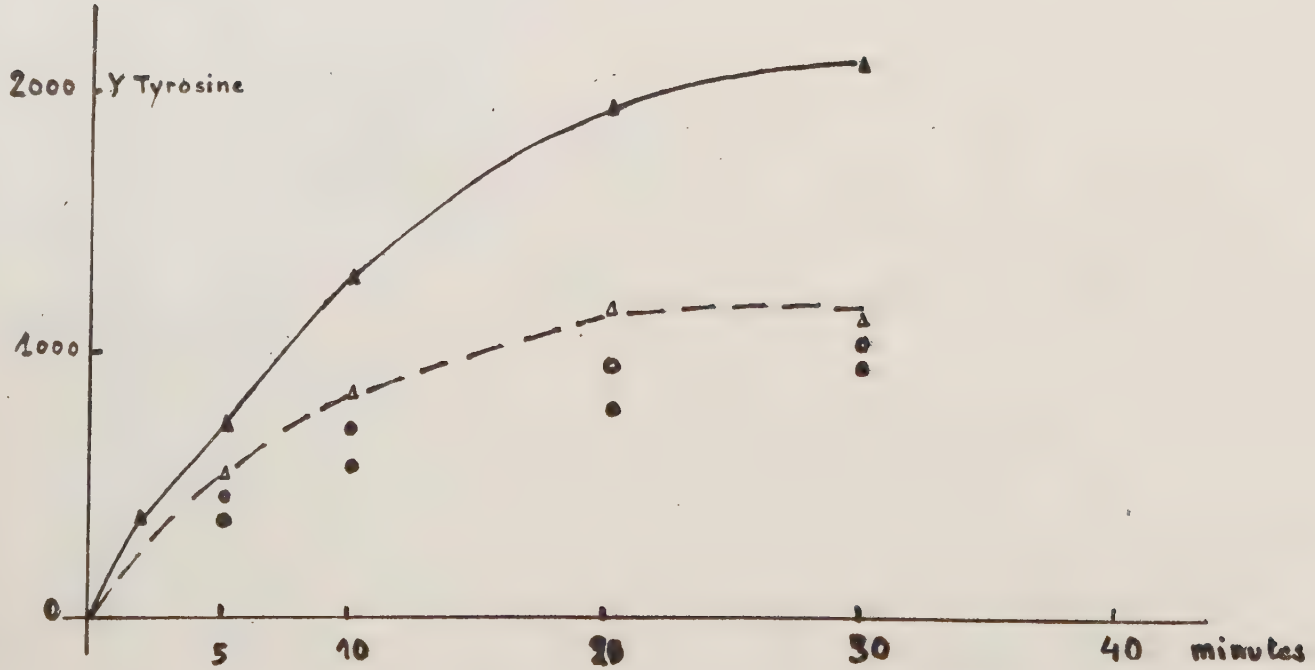

γ Tyrosine
1300
650
Pepsine 2.5mg o Δ
15 mg • ▲
Plasma 3% Δ ▲
5% o •
5
10
20
30
40
minutes

37 bis


Pepsine 15 mg
S. albumine 3% Δ
" 5% •
1000 γ Tyrosine
5
10
20
30
40
minutes

37 ter

Suc gastrique _ S. Albumine 5% ▲
(5 échantillons) 3% △
_ Plasma 5% •
3% ○



37 quater

La comparaison de ces courbes montre qu'il n'existe pas la même proportionnalité pour un temps donné entre les activités peptiques et les concentrations de pepsine. (Pepsine dans le rapport de 1 à 6, activité peptique 1 à 2,5 pour le plasma à 5 %). Ce fait peut s'expliquer par la trop forte concentration en enzyme du milieu. Dans ces cinétiques, on emploie habituellement des concentrations très faibles d'enzyme et par conséquent de substrat.

Les conclusions sont les mêmes si le substrat utilisé est la sérum-albumine. Nous nous reportons aux courbes ci-contre.

Si nous avons procédé ainsi, c'est que les sucs gastriques d'activité normale correspondent à une concentration peptique élevée; nous avons voulu réaliser avec un enzyme cristallisé les cinétiques avec deux concentrations de substrat qui nous permettent simplement de choisir le temps optimum de réaction à trente minutes.

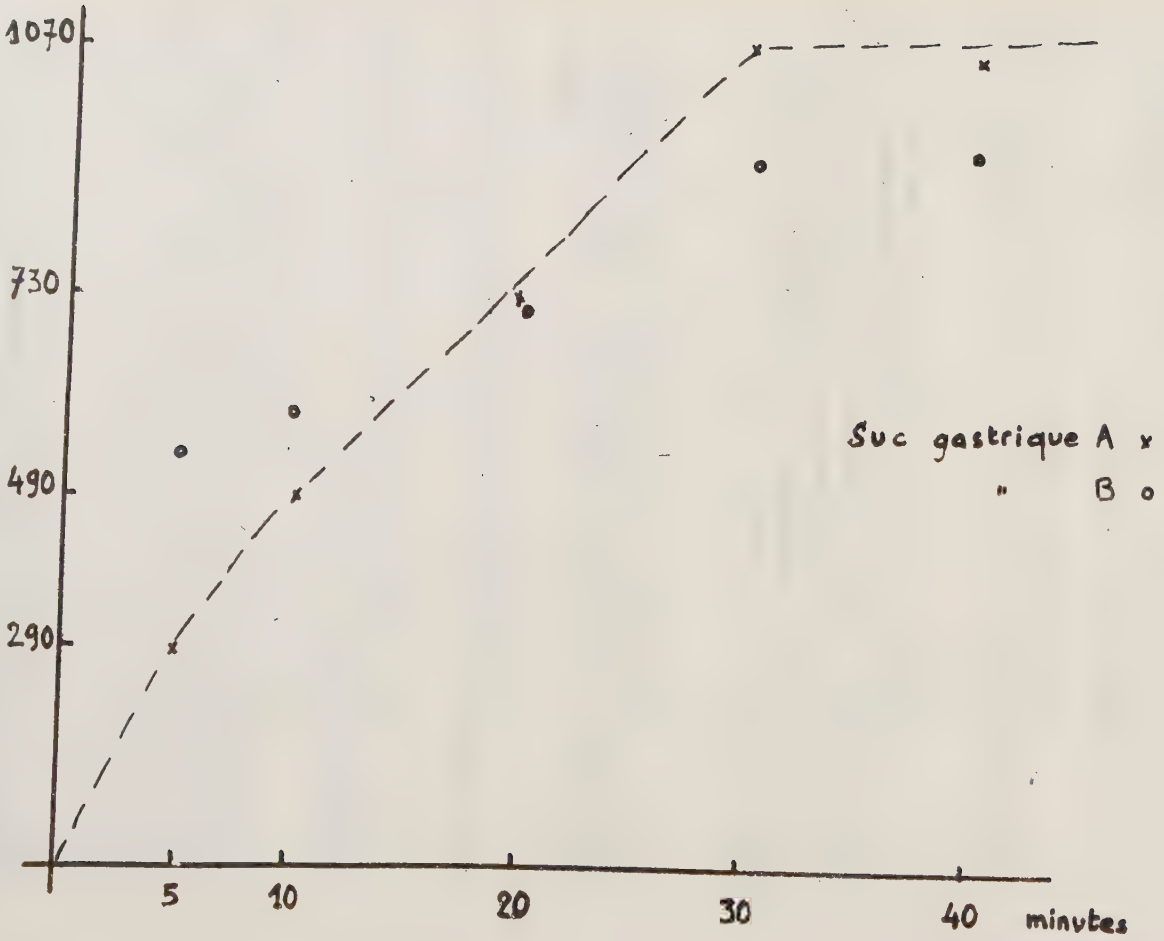
Mais, avec des sucs gastriques d'activité peptique différente nous observons le même phénomène de plateau dans les deux cinétiques faites avec le plasma et la sérum-albumine à 3 ou 5 % (cf. courbes).

Pour des activités faibles, on ne note aucune modification de valeur, de vingt à trente minutes.

Pour des activités plus fortes, le temps de trente minutes est nécessaire pour arriver à la valeur maximum d'activité peptique.

Dans l'une des cinétiques, de sept cent trente microgrammes par millilitre, valeur obtenue à vingt minutes, l'activité peptique passe à mille soixante dix microgrammes par millitre à trente minutes, pour atteindre mille dix microgrammes par millilitre à quarante minutes.

Dans une autre, à vingt minutes, l'activité est de sept cent quarante microgrammes par millilitre, montant à neuf cent trente cinq à trente minutes, à quarante minutes elle est à neuf cent cinquante.


1070
730
490
290
5
10
20
30
40
minutes
Suc gastrique A x
" B o

Il en découle que nous avons choisi comme durée optimum de la réaction le temps de trente minutes.

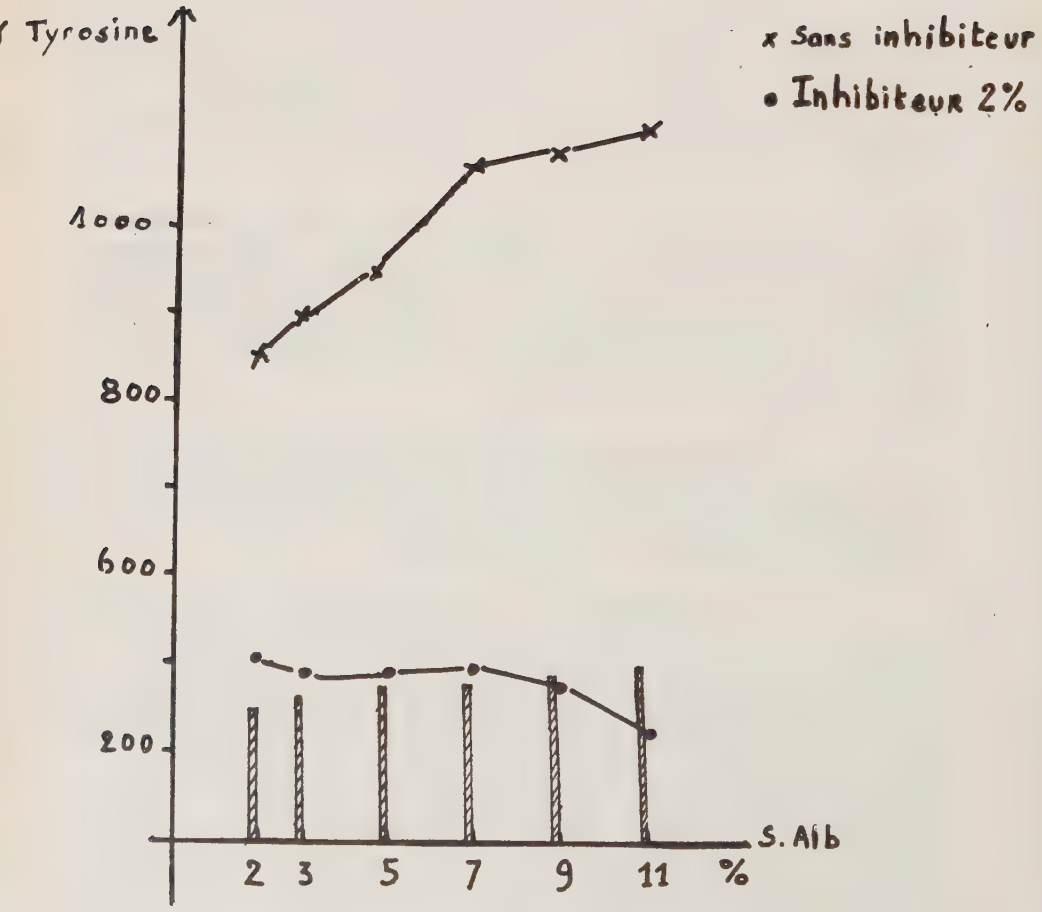
INHIBITION DE L'ACTIVITE PEPTIQUE

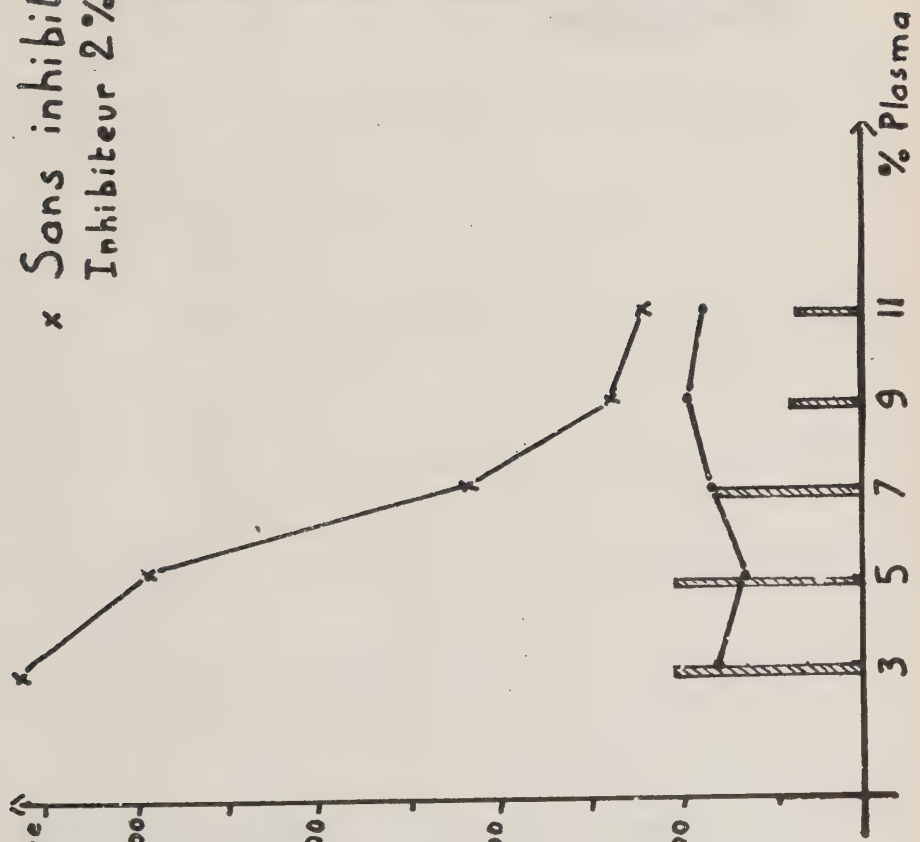
Dans le chapitre de l'Etude des Substrats, nous avons mis en évidence que de fortes concentrations de substrat plasmatique (7 %, 9 %, 11 %) donnaient des activités peptiques de pepsine cristallisée ou de suc gastrique inférieures à celles déterminées avec 3 et 5 % du même substrat.

Ces résultats s'expliquent par la présence d'un inhibiteur de la protéolyse dans le sérum humain. Dès 1893, Hildebrandt l'avait signalé, Landsteiner en 1900 le confirme et Lannoy, en 1919, montre que cette activité anti-protéolytique est constante chez les mammifères et les oiseaux.

Avec une concentration de plasma à 5 % nous avons une garantie suffisante pour doser les variations d'activité peptique d'un suc gastrique au cours d'un tubage histaminique ou insulinique.

Le problème de l'inhibiteur peptique dans le plasma ne se pose que si l'on veut étudier, au-delà du choix de la concentration optimum de substrat, un inhibiteur peptique. La courbe ci-contre (A) montre les résultats obtenus avec différentes concentrations de plasma et une même concentration en inhibiteur. L'activité peptique en présence de l'inhibiteur étudié est voisine de deux cents microgrammes par millilitre quelle que soit la concentration du substrat, mais le calcul du pourcentage d'inhibition varie de quatre vingt à deux pour cent si l'on prend pour valeur de référence l'activité peptique aux concentrations de 3 % et 11 %.


γ Tyrosine
x Sans inhibiteur
• Inhibiteur 2%
1000
800
600
200
S. Alb
2
3
5
7
9
11
%


γ Tyrosine
800
600
400
200
× Sans inhibiteur
Inhibiteur 2% • •
3
5
7
9
11
% Plasma

La courbe (B) montre qu'avec la sérum-albumine le pourcentage d'inhibition ne subit pas de telles variations en augmentant les concentrations de substrat.

Ces résultats nous incitent à la plus grande prudence dans le choix du substrat pour une étude théorique d'un inhibiteur de la protéolyse peptique et posent une difficulté supplémentaire dans l'interprétation du mécanisme de l'inhibition : s'agit-il d'une inhibition compétitive ENZYME-SUBSTRAT, ENZYME-INHIBITEUR ?

C O N C L U S I O N S

Le présent travail comporte deux parties :

1°) - Un rappel de la physiologie de la sécrétion peptique basée sur la littérature médicale récente :

- histophysiologie de la cellule à pepsine
  - . Rappel des différents types de cellules gastriques.
  - . Répartition des cellules principales dans l'estomac et histogénèse.
  - . Histologie élémentaire de la cellule à pepsine.
  - . Cycle de sécrétion du pepsinogène et modification de la structure cellulaire en fonction de ce cycle.
- stimulation physiologique de la sécrétion peptique
- stimulation pharmacologique
- appréciation de l'activité peptique de l'estomac

2°) - La partie originale de ce travail concerne les différents points techniques se rapportant aux dosages de l'activité peptique du suc gastrique. Les conclusions suivantes se sont dégagées :

- Quelle que soit la méthode utilisée, elle est discutée, et il paraît impossible de rapporter les résultats à une quantité cristallisée de

pepsine. Les différences de résultats observés avec un même lot d'enzyme, la dégradation spontanée de celui-ci libérant des substances donnant la réaction des phénols, l'absence de standardisation des unités de pepsine en sont la cause. La méthode retenue consiste à exprimer les résultats en microgramme-tyrosine libérée par millilitre de suc gastrique par référence à une courbe étalon de tyrosine.

- La notion de concentration doit compléter celle de débit. L'étude cinétique de la libération de tyrosine par une pepsine cristallisée montre que le temps de trente minutes choisi pour la durée du dosage répond aux conditions optima et ceci indépendamment de l'activité peptique absolue. Il en est de même pour le suc gastrique.

- Dans l'expression des résultats en microgramme-tyrosine par millilitre, il faut tenir compte que dans tout liquide gastrique existe une certaine quantité de substances donnant aussi la réaction des phénols. Nous les dénommons "tyrosine endogène". Il faut donc déduire, de celle provoquée par la digestion peptique au cours du dosage, cette coloration qui doit être mesurée pour chaque essai avec précision. Une statistique sur 150 tubages montre, en effet, que cette "tyrosine endogène" varie avec les états pathologiques et selon le moment du prélèvement par rapport à l'excitation pharmacologique. Le type de stimulation - histamine, jeûne, insuline - modifie inégalement l'évolution de la "tyrosine endogène".

- Comme pour toute mesure d'activité enzymatique, on doit rechercher un optimum de pH pour le dosage. Sur 94 échantillons ramenés à pH 1,6 on peut séparer :

    . les liquides de pH spontané supérieur à 6 (13 cas) où la correction augmente l'activité peptique de 26,5% ; la différence en microgramme-tyrosine étant en moyenne de 37,5 microgrammes.

- les liquides de pH de 4 à 5 (41 cas) où l'ajustement du pH entraîne une diminution de l'activité peptique de 19,5% ; la différence en microgramme-tyrosine étant de 58,42.
- les liquides de pH de 2 à 3,9 (40 cas) où la correction du pH entraîne une diminution de l'activité peptique de 17% ; la différence en microgramme-tyrosine étant de 86,65.

En valeur absolue de concentration, ces corrections représentent parfois une correction très supérieure à 100 microgrammes. Ceci laisse supposer une différence de nature de la sécrétion enzymatique protéolytique de l'estomac selon les sujets (présence de plusieurs pepsines et cathepsines).

- La centrifugation du suc gastrique permet de montrer qu'habituellement le surnageant présente une activité peptique supérieure au suc pris dans son entier. Cette différence ne semble pas due au pipetage de substances inertes, mais à l'intervention d'inhibiteurs liés à la fraction mucus soluble. L'intérêt réel de la centrifugation préalable est discutée.
- La recherche d'un substrat protéique stable de manipulation aisée se heurte à certaines difficultés. Le plasma sanguin dénaturé, peu onéreux, contient une antipepsine qui oblige à n'utiliser qu'une concentration définie de substrat. L'utilisation de sérum albumine semble échapper à cet inconvénient, mais les résultats semblent moins proportionnels pour les fortes activités peptiques.
- La présence d'inhibiteur peptique, soit dans le substrat employé (plasma) soit dans l'enzyme utilisé (suc gastrique) rend délicate l'étude d'un inhibiteur spécifique (polysaccharides sulfatés par exemple) et pose le problème des inhibitions compétitives.

BIBLIOGRAPHIE

AITKEN M.A., SPRAY G.H. WALTERS G.	Clin. Sci. 1954, 13, 11.
ALTMANN R.	Die Elementarorganismen und ihre Beziehungen zu den Zellen, Leipzig, Veit 1890.
ANSON M.L.	J. Gen. Physiol. 1938, 22, 79.
ANSON M.L., MIRSKY A.E.	J. Gen. Physiol. 1932, 16, 59.
BABKIN B.P., KOMAROV S.A.	Rev. Canad. Biol. 1944, 3, 344.
BAKER B.L., ABRAMS G.D.	Am. J. Physiol. 1954, 177, 409.
BENDERSKY,	Arch. Path. Anat. 1890, 121, 554.
BERGMANN, FRUTON	Adv. Enzymol, 1941, 1, 63.
BOWIE D.J.	Anat. Rec. 1940, 78, 9.
BRUCKE E.	S.B. Akad. Wiss. Wien 1861, 43, 60.
DEKKER C.A., TAYLOR S.P. FRUTON J.S.	J. Biol. Chem. 1949, 180, 155.
DENUELLE P., ROVREY H. PONJOUR G.	Biochim. Biophys. Acta 1950, 5, 116.

EBSTEIN W., GRUTZNER P.	Arch. ges. Physiol. 1874, 8, 122.
FERGUSON A.N.	Am. J. Anat. 1928, 42, 403.
FULD E., HIRAYAMA K.	Z. exp. Path. Physiol. 1912, 10, 248.
GEERIG F.	Arch. ges. Physiol. 1886, 38, 35.
HARINGTON E.R., PITT RIVERS	Biochem. J. 1944, 38, 417.
HILDEBRANDT	Gen. Physiol. 1943, 4, 405.
HIRSCHOWITZ B.I.	Gen. Physiol. 1957, 37, 492.
HUNT J.N.	Gastric Secretion III ; in Modern Trends in Gastro-entorology, 1952, 296, 308.
JANOWITZ H.D., HOLLANDER	J. Appl. Physiol. 1951, 4, 53.
KOWALEWSKI K.	Canad. J. Biochem. et Physiol. 1954, 32, 553.
LAMBLING A., BERNIER J.J.	Sem. Hôp. Paris, Arch. Biol. Méd. 1956, 32.
LANDSTEINER	Gen. Physiol. 1943, 4, 405.
LANGLEY J.N.	J. Physiol. 1881, 3, 246.
LANNOY	J. Gen. Physiol. 1943, 4, 405.
LINDE S.	Acta Physiol. Scandinav. 1950 et 1953, 21, 23.
LORTHIOIR, FOSSOUL	Acta Gastro-ent. Belg. 1957, 20, 19.
MACALLUM A.B.	Quart. J. Micr. Sci. 1896, 38, 175.

PAVLOV	Le travail des glandes digestives, 1 vol. (Masson 1901).
POPE, STEVENS	Brit. J. exp. Path. 1951, 32, 314.
RYLE A.P., PORTER R.R.	Biochem. J. 1959, 73, 75.
UVNAS B.	Acta physiol. scand. 1945, 19, 296.
WERNER B.F.	Acta paediat. 1948, 170, 8.